

Aus dem Institut für Wasser, Boden und Lufthygiene
des Bundesgesundheitsamtes Berlin.

Leiter: Prof. Dr. med. von Nieding

**ÜBERLEBENSDAUER UND
ADSORPTIONSVERHALTEN EINIGER
MIKROORGANISMEN IM GRUNDWASSER
UND UNTER
GRUNDWASSERLEITERÄHNLICHEN
BEDINGUNGEN IM MODELLVERSUCH**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Deogratias Kaddu-Mulindwa
aus Kikubampagi/Uganda

Berlin 1984

Journal-Nr. 1184

Aus dem Institut für Wasser, Boden und Lufthygiene
des Bundesgesundheitsamtes Berlin.

Leiter: Prof. Dr. med. von Nieding

Überlebensdauer und Adsorptionsverhalten einiger
Mikroorganismen im Grundwasser und unter grund-
wasserleiterähnlichen Bedingungen
im Modellversuch.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur

Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Deogratias Kaddu-Mulindwa

aus Kikubampagi/Uganda

Berlin 1984

Journal-Nr. 1184

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichsprecher:	Prof. Dr. F. Hörchner
Referent:	Prof. Dr. E. Hellmann
Korreferent:	Priv.- Doz. Dr. Z. Filip

Tag der Promotion: 24. Juli 1984

MEINEN ELTERN

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	5
2. LITERATURÜBERSICHT	7
2.1. Vorkommen von Mikroorganismen im Grundwasser	7
2.2. Überlebensdauer von Mikroorganismen im Grundwasser	12
2.3. Adsorption und Transportverhalten von Mikroorganismen	14
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	21
3.1. Material und Methoden	21
3.1.1. Testorganismen	21
3.1.2. Medien	22
3.1.3. Wasser	24
3.1.4. Mineralische Bausteine der Modellgrundwasserleiter	24
3.1.5. Herstellung von Mikroorganismensuspension	25
3.2. VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	27
3.2.1. Überleben der in Grundwasser suspendierten Testorganismen	27
3.2.2. Überlebensdauer von Testorganismen in einem gesättigten grundwasseraquiferähnlichen Milieu	28
3.2.3. Überlebensrate von Testorganismen in einem mit C und N angereicherten Grundwasser	30
3.2.4. Versuch zur statische Adsorption	30
3.3. ERGEBNISSE	32
3.3.1. Überlebensdauer der Mikroorganismen im Grundwasser mit und ohne Zusatz von Sand und von Nährstoffen	32
3.3.2. Adsorptionsverhalten ausgewählter Testmikroorganismen unter statischen Bedingungen	38

4. DISKUSSION	40
4.1. Überlebensdauer der Testmikroorganismen im Grundwasser und unter grundwasserleiter-ähnlichen Bedingungen	40
4.2. Adsorptionsverhalten der Testkeime gegenüber drei verschiedenen Sandfraktionen	46
4.3. SCHLUßFOLGERUNGEN	48
5. ZUSAMMENFASSUNG	50
6. SUMMARY	52
7. LITERATURVERZEICHNIS	54
8. ABBILDUNGEN	69

1. EINLEITUNG

Dem Grundwasser kommt für die Trinkwasserversorgung in der Bundesrepublik Deutschland eine besondere Bedeutung zu, da ca. 70 % der öffentlichen Wasserversorgung aus Grundwasservorräten gespeist werden. Daher wird dem Schutz des Grundwassers als Trinkwasservorrat höchste Priorität beigemessen, was sich u.a. in der Einführung von Wasserschutzgebieten und Trinkwasserschutzzonen niederschlägt. Bei der Festlegung der sog. 50 Tage-Linie als Schutzzone II werden dabei auch pathogene und potentiell pathogene Mikroorganismen als epidemiologisch-hygienische Faktoren berücksichtigt. Die Schutzzone II soll nach den gültigen deutschen Richtlinien für Trinkwasserschutzgebiete, I. Teil, Schutzgebiete für Grundwasser (1975), Verunreinigungen im Grundwasser durch krankheitserregende Mikroorganismen ausschließen.

Die Überlebensdauer, der Transport sowie das Adsorptionsverhalten von pathogenen und potentiell pathogenen Mikroorganismen, die im Grundwasser vorkommen oder durch diverse Verunreinigungen in dieses gelangt sein können, sind trotz ihrer Bedeutung für die Gewinnung von hygienisch einwandfreiem Trinkwasser noch wenig erforscht. In einer Literaturübersicht von ALLEN (1979) wird betont, daß insbesondere über den Transport von pathogenen Mikroorganismen im Grundwasser, unter Berücksichtigung der Wasserinhaltsstoffe und der spezifischen Eigenschaften der mineralischen Bausteine eines Grundwasserleiters, bisher keine ausreichenden Ergebnisse vorliegen. Das gleiche gilt auch für die mikrobielle Stoffwechselaktivität, welche sich beispielsweise auf organoleptische Eigenschaften des Trinkwassers auswirken kann.



Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen Beitrag zur Beleuchtung der Problematik der Überlebensdauer und das Adsorptionsverhalten einiger relevanter Mikroorganismen unter simulierten grundwasserleiterähnlichen Bedingungen zu liefern. Die Ergebnisse sollten insbesondere auch im Hinblick auf eine stets diskutierte Dimensionierung der Trinkwasserschutzzone II weitere Informationen bringen.

2. L I T E R A T U R Ü B E R S I C H T

2.1 Vorkommen von Mikroorganismen im Grundwasser

Ein unter optimalen Bedingungen gebildetes Grundwasser kann im allgemeinen als frei von pathogenen Mikroorganismen betrachtet werden. Solch ein Grundwasser hat deshalb auch die besten Voraussetzungen dem Menschen als Trinkwasser zu dienen. Grundwasservorkommen sind daher als eine der wichtigsten Trinkwasserreserven gegen jeglichen Einfluß zu schützen, der sich nachteilig auf die Grundwasserbeschaffenheit auswirken kann.

Gemäß der Deutschen Trinkwasserverordnung (Bundesgesetzblatt Nr. 16 vom 5. Februar 1975) darf ein einwandfreies Trinkwasser in 100 ml keine Escherichia coli-Keime enthalten. Damit soll gewährleistet werden, daß es frei von Krankheitserregern ist, so daß durch den Genuß von Trinkwasser für den Menschen kein gesundheitlicher Schaden entstehen kann. Außerdem sollen in 100 ml keine sonstigen coliformen Bakterien enthalten sein, und die Koloniezahl darf in 1 ml nicht mehr als 100 betragen. Darüber hinaus setzt die Trinkwasserverordnung auch verbindliche Normen für physikalische und chemische Beschaffenheit des Trinkwassers fest, auf die hier nicht eingegangen werden soll.

Die Beschaffenheit von Trinkwasser wird auch in der Literatur stets diskutiert. So fordern beispielsweise FLAMM und WEBER (1978) eine Untersuchung, die sich aus einer chemischen, radiologischen oder speziell biologischen sowie einer bakteriologischen Prüfung zusammensetzt. Um beim bakteriologischen Befund eine höhere Aussagekraft zu erzielen, empfehlen die Autoren, neben E. coli weitere Indikatormikroorganismen heranzuziehen.

Voraussetzung für die Eignung eines Mikroorganismus als Indikator ist neben einer schnellen und sicheren Nachweismethode eine enge Beziehung zwischen dem Indikatorkeim und einer Reihe von pathogenen Mikroorganismen. SCHIEMAN et al. (1978) konnten beispielsweise anhand von Abwasseruntersuchungen zeigen, daß nur dann Salmonellen im Wasser nachzuweisen waren, wenn gleichzeitig eine hohe Coliformenzahl vorlag.

Neben E. coli und coliformen Bakterien gilt auch Clostridium perfringens als ein Indikatorkeim (GELDREICH, 1979). Nach BISSON und CABELLI (1980) ist Cl. perfringens zwar nicht generell als Fäkalindikator im Wasser geeignet, doch weisen seine Endosporen auf eine zurückliegende fäkale Verunreinigung hin. Die Gegenwart vegetativer Formen von Cl. perfringens dürfe allerdings für eine unmittelbare fäkale Verunreinigung sprechen.

GRÄF und PELKA (1979) fanden, daß in Oberflächenwässern etwa 2 - 3 % der ermittelten Koloniezahl auf Myxobakterien zurückzuführen sind. Sie empfehlen daher, den Nachweis von Myxobakterien in die bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung mit einzubeziehen, weil dieser Parameter im Vergleich zur Koloniezahlbestimmung eine potentielle Kontamination des Wassers mit Oberflächenkeimen besser anzeigen kann. Die Myxobakterien sind sehr flexibel, auf nährstoffarmen Medien leicht und sicher zu identifizieren und besitzen auch eine große Affinität zu festen Oberflächen. Bei einer Bodendurchdringung werden sie leichter zurückgehalten als beispielsweise E. coli. Ihr Auftreten in Trinkwasser kann damit eine hygienisch bedenkliche Wasserbelastung durch unzureichend gereinigtes Oberflächenwasser auch ohne einen gleichzeitigen Nachweis von Fäkalindikatoren anzeigen.

Auch das fakultativ pathogene Staphylococcus aureus wird häufig als Gewässerkontaminant beschrieben. Bei der Untersuchung von Trinkwasser in ländlichen Gebieten waren 6 % der Proben mit Staphylococcus aureus kontaminiert. In 40 % der kontaminierten Proben wurden Enterotoxin A nachgewiesen. Eine Korrelation zwischen dem Auftreten von Staph. aureus und dem Nachweis coliformer Bakterien wurde nicht gefunden (LeCHEVALLIER und SEIDLER, 1980).

Streptococcus faecalis wird von GELDREICH (1981) als ein guter Indikator für Fäkalverunreinigung von Oberflächenwasser bezeichnet.

LAMKA et al. (1980) weisen auf die Bedeutung der "Gesamtkeimzahl" bei der Wasseruntersuchung hin. Die Autoren untersuchten Quell- (Einzelversorgungs) Brunnenwasser, das zu Trinkwasserzwecken benutzt wird, und fanden bei mehr als einem Drittel aller Proben eine "Gesamtkeimzahl" größer als 10^3 Kolonien/ml. Es bestand eine negative Korrelation zwischen der "Gesamtkeimzahl" ($35^{\circ}\text{C}/48\text{ h}$) und der Zahl coliformer Bakterien. Als eine Ursache wurde das Vorhandensein von Bakterien genannt, die zur Trinkwassermikroflora gehören und das Wachstum der Coliformen hemmen. Beträgt die "Gesamtkeimzahl" mehr als 500 Kolonien/ml, so kommt dieses antagonistische Verhalten verschiedener Bakterien wie Bacillus sp., Pseudomonas sp., Flavobakterium sp., Micrococcus sp., und Aktinomyces gegenüber den coliformen Bakterien deutlich zum Ausdruck. Daher scheint die "Gesamtkeimzahl" ein wichtiges Kriterium für die Qualität eines Trinkwassers selbst dann zu sein, wenn keine coliformen Bakterien nachweisbar sind.

Für eine umfassende hygienische Beurteilung des Trinkwassers sollten folgende Gesichtspunkte herangezogen werden:

- geologische und hydrologische Verhältnisse des Einzugsbereiches
- menschliche Aktivitäten im Einzugsbereich
- Größe des Schutzgebietes
- Art der Wasserversorgungsanlage
- Art des Leitungsnetzes
- Art der Wasserversorgungsobjekte

Die beiden letzten Punkte können vor allem in Bezug auf eine Sekundärverunreinigung von Bedeutung sein. Eine längere Verweildauer im Leitungsnetz kann beispielsweise zu einer Wiederverkeimung führen. In einwandfreiem Trinkwasser, das in sterilen Glasgefäßen aufbewahrt wurde, konnte SCHWEISFURTH (1979) spätestens nach 2 - 4 Tagen einen sprunghaften Anstieg der Bakterienzahlen feststellen. Bei der Wiederverkeimung handelt es sich meistens um die Vermehrung der autochthonen Wasserflora, die jedoch, wie PETZELT (1975) meinte, in der üblichen Verbrauchszeit kein nennenswertes Ausmaß annimmt, da der Gehalt an verwertbaren Nährstoffen im Trinkwasser zu gering ist.

Die mikrobiologischen Qualitätsveränderungen von Grundwasser können durch unsachgemäße Abwasser- und Schlammabeseitigung bzw. durch Abfälle verschiedener Art verursacht werden (ALLEN, 1979). Nach den Literaturangaben (HVID, 1955; MERKLI, 1974; SCHWEISFURTH, 1974; SCHMIDT, 1980; MATTHEß und PEKDEGER, 1981) sind das Vorkommen und Verhalten von Mikroorganismen im Grundwasser von folgenden Faktoren abhängig:

- I. Art der Mikroorganismen
- II. Wechselbeziehungen zwischen den Mikroorganismen
- III. Vorhandensein organischer und anorganische Nährinhaltsstoffe im Grundwasser

IV. Temperatur

V. pH-Wert

VI. Beschaffenheit des Grundwasserleiters und seine Deckschicht.

Andere Faktoren, wie die den Wasserhaushalt bestimmenden Größen - Niederschlagsmenge, Evaporation und Transpiration - sowie Sickerrate und Sonneneinstrahlung können ebenfalls das Eindringen von Mikroorganismen in das Grundwasser beeinflussen.

Der Bedarf an sauberem Grundwasser nimmt im Unterschied zu den Grundwasservorräten ständig zu. Um diesen zunehmenden Bedarf zu sichern, wurde in den letzten Jahren stellenweise eine künstliche Grundwasseranreicherung eingeführt. Daher und auch in Hinsicht auf die Verschlechterung der mikrobiologischen Qualität der meisten Oberflächengewässer, gewinnt die Frage nach der Elimination von in das Grundwasser eingeschleppten pathogenen Mikroorganismen zunehmend an Bedeutung (BORNEFF und SELENKA, 1971)

Eine statistische Analyse von ALLEN und GELDREICH (1975) über wasserbedingte Krankheiten in den USA in der Zeit von 1946 bis 1970 ergab, daß 50 % der Ausbrüche auf kontaminiertes Grundwasser zurückzuführen sind. Als wichtigste der durch Wasser übertragbaren pathogenen Bakterien sind Salmonella sp. (KNORR, 1929; KISSKALT und KNORR, 1930; SEEBERGER, 1951; WALTHER, 1951; KELLER, 1972; CRAUN, 1974; MÜLLER 1979), Shigella sp. (CRAUN, 1979; BÖHM et al., 1978) und Vibrio cholerae (TEUBER, 1948; MOSLEY, 1970; HORNICK et al., 1971) zu nennen.

Gastroenteritis- Ausbrüche durch Yersinia enterocolitica nach einem Genuß von nachweislich infiziertem und ungechlortem Brunnenwasser wurden von LASSEN (1972); HARVEY et al. (1976); HIGHSMITH et al. (1977) beschrieben.

Über die Übertragung von Leptospiren durch Wasser und ihr Überleben berichteten CRAWFORD (1971) und POPOVIC (1977).

CRAUN (1978) beschrieb Gastroenteritis-Ausbrüche, die durch mit Wasser übertragene Enterotoxin-bildende E. coli-Stämme verursacht wurden.

Nach GELDREICH (1977) sind in einem geschützten Grundwasser 1 - 10 Sporen von Bacillus sp. in 100 ml zu finden. In Infiltrationsbrunnen an verschmutzten Flüssen sind dagegen mehr als 2000 Sporen in 100 ml enthalten.

Über das Vorkommen von Pseudomonas aeruginosa in Grundwasser und Oberflächenwasser berichteten SCHUBERT und SCHEINER (1975). Eine zunehmende Kontamination von Wasser und Boden mit Pseudomonaden stellte auch GELDREICH (1979) fest.

Legionella- und ALLO-Bakterien (ALLO = Atypical-Legionella-Like-Organisms) sind erst kürzlich entdeckte Pathogene, die im Wasser gut gedeihen können (FRASER und McDADE, 1979; CORDES, 1979; FLIERMANS et al., 1979, 1981; POLITI et al., 1979).

2.2 Überlebensdauer von Mikroorganismen im Grundwasser

Pathogene Mikroorganismen können in organischen Düngern (Stallmist, Jauche, Gülle), abgelagertem Müll, Kehrlicht, Kompost und Abwässern enthalten sein. Sie können damit in die Umwelt gelangen und dort z.T. sehr lange überleben. Mit Niederschlägen können sie beispielsweise tief in den Boden eingewaschen werden und mit dem Sickerwasser über die ungesättigte Zone bis in das Grundwasser gelangen. Sie können aber auch auf dem Umweg über oberirdische Gewässer, die im Austausch mit dem Grundwasser stehen, den Grundwasserleiter erreichen.

Für die Beurteilung der Gefährdung des Grundwassers ist die Frage von Bedeutung, wie lange pathogene Mikroorganismen in verschiedenen Milieus überleben können. Mit Kot umhüllt, beispielsweise, können pathogene Mikroorganismen sehr lange überleben, und zwar nach GÄRTNER (1915) im inneren der Kottelchen länger als an ihrer Oberfläche, im feuchten Kot länger als im trocknen und in einer kühlen Umgebung länger als in der Wärme. GÄRTNER (1915) gibt für Cholera-Erreger in einer Abortgrube Überlebenszeiten von 15 - 30 Tagen, für Typhusbakterien an der Oberfläche einer Abortgrube bis 20 Tage bzw. in deren tieferen Teilen bis zu 40 Tagen an. In einer Spülgrube überleben Cholera-Erreger über 85 Tage, jedoch unter eingeschränkter Sauerstoffzufuhr nur 21 Tage; Typhus-Erreger überleben ebenfalls mehrere Wochen, unter eingeschränkter Sauerstoffzufuhr sogar mehr als 6 Wochen.

Der biologische aktive Boden verkürzt die Überlebenszeit humanpathogener Mikroorganismen erheblich; z.B. wurden Cholera-Erreger nach wenigen Tagen eliminiert, in sterilem Boden jedoch erst nach 1 Jahr. Milzbrandsporen wurden noch nach 3 Jahren nachgewiesen (GÄRTNER, 1915). Ähnliche Beobachtungen machte GLATHE et al. (1963a, b) in Untersuchungen über die Lebensfähigkeit und das Verhalten von E. coli und Salmonellen in verschiedenen Bodenarten.

Die in Experimenten gefundenen unterschiedlichen Überlebenszeiten von Colibakterien und pathogenen Darmbakterien (z.B. Salmonellen) in verschiedenen Lehm- und Sandböden beruhen zumindest zum Teil auf der antagonistischen Wirkung von Mikroorganismen (MATTHEß, 1973). Die Überlebenszeit war in Tonschiefer mit einer hohen Keimzahl an autochthonen Bakterien am geringsten, in keimarmen Podsol am größten.

KORKMAN (1971) fand, daß die Konzentration von Str. faecalis in einer auf den Boden aufgetragenen Jauche in der ersten Woche konstant blieb, danach aber exponentiell abnahm. Nach ca. 8 Wochen war Str. faecalis nicht mehr nachweisbar.

Die Eliminationsrate λ (Elimination pro Zeiteinheit, ORLOB, 1956) betrug bei Temperatur von 7,5° bis 15,2° C ohne Unterschied zwischen Oberfläche und ca. 10 cm Tiefe 0,0626/Tag mit einem t_0 von 7 Tagen. TLUCZEK et al. (1975) konnten 0,001 % der aufgegebenen Enterokokken noch 2 - 3 Monate später im Boden nachweisen; 1 - 10 % der Fäkalcoliformen waren nach 4 bis 7 Monaten immer noch nachweisbar.

Diese Beispiele zeigen, daß pathogene Mikroorganismen im Boden z.T. lange überleben und für das Grundwasser eine potentielle Gefahrenquelle darstellen können. Unter Umständen können so auch lange Zeit nach der Ausscheidung Keimeinbrüche in das Grundwasser erfolgen, die dann nicht mehr ursächlich zurückverfolgt werden können. Umfassende systematische Untersuchungen über die Überlebensdauer von Mikroorganismen im Grundwasser sind daher unbedingt erforderlich.

In der Tabelle 1 sind einige Literaturangaben über die Überlebensdauer von Mikroorganismen im Grundwasser dargestellt.

2.3 Adsorption und Transportverhalten von Mikroorganismen

Der Problematik der Wechselwirkung zwischen Mikroorganismen und festen Oberflächen wurde insbesondere in den letzten Jahren viel Aufmerksamkeit gewidmet (Zusammenfassung siehe z.B. FILIP, 1975). Die einzelnen Literaturangaben fallen jedoch oft uneinheitlich aus, so daß es oft schwierig ist, die Ergebnisse aufeinander abzustimmen. Es werden hier deshalb nur einige für das Thema relevante Literaturangaben zu der Problematik der Adsorption- bzw. des Transportverhaltens von Mikroorganismen besprochen.

Tabelle 1: Überlebenszeit in Tagen von pathogenen und Indikatorbakterien
im Grundwasser.

MIKROORGANISMEN	Überlebenszeit ⁺ in Tagen bei einer Temp. von		LITERATUR
	10°C	15°C	
Escherichia coli (E. coli)		30 - 32	MERKLI (1974)
E. coli (enteropathogen) ^x	ca. 90		KUDRYAVTSEVA (1970)
E. coli (saprophyt.) ^x	ca. 105		" "
E. coli		23	WUHRMANN (1977; 1980)
Streptococcus faecalis		43	" "
Salmonella typhimurium		70 - 205	MERKLI (1974)
Salmonella typhimurium		230	WUHRMANN (1977; 1980)

⁺Die Angabe bezieht sich auf einer Keimzahlreduktion von 99,9%, die mit ^x gekennzeichneten Proben ausgenommen. Hier fehlte eine Berechnung der Absterberate.

Bakterien und Viren stellen oft Teilchen kolloidaler Natur dar, die beim pH-Wert um 7 eine negative Ladung tragen (BITTON, 1975). Dennoch können sie unter Einbeziehung verschiedener Mechanismen an Oberflächen adsorbiert werden, wo sich ihnen wegen einer oft vorhandenen Nährstoffanreicherung bessere Lebensbedingungen als im freiem Zustand bieten (FILIP, 1979). FILIP führt auf, daß die Neigung zu sorptiver Bindung einschließlich derjenigen zur aktiven Haftung mit zunehmendem Alter der Bakterien zurückgeht.

Die Anhaftung von Bakterien an Festkörper erfolgt unter Beteiligung der Zellwand, der Schleimkapsel, der Flagellen, Fimbrien oder anderer Zellbestandteile. Sowohl gramnegative als auch grampositive, bewegliche und unbewegliche Bakterien werden adsorbiert (BROWN et al., 1979; DEINEMA & ZEVENHUIZEN, 1971; FLETCHER & FLOODGATE, 1973; FRIEDMAN et al., 1969; TAGO & AIDA, 1977; FILIP, 1979). ZVYAGINITSEV et al. (1979) berichteten, daß sich Bacillen mittels Flagellen an der gesamten Zelloberfläche anheften, Pseudomonaden dagegen nur mit dem geißellosen Teil der Zelle

Mikroorganismen können auf festen Oberflächen wachsen, dort Zellanhäufungen bilden und die festen Partikel mit einer schleimartigen Haut überziehen (STUNDL, 1967). Jedoch ist ein passiver Transport durch mechanisch freigesetzte Zellen im Grundwasser durchaus möglich.

HENDRICKS (1974) stellte fest, daß heterotrophe Bakterien, einschließlich Enterobakterien im adsorbierten Zustand metabolisch aktiver als Suspension sind. Es wurde weiterhin beobachtet, daß es im Meerwassersediment zu einem Wachstum und einer verlängerten Lebensfähigkeit (im Vergleich zum überstehenden Wasser) von E. coli kommt. Dies kann durch eine größere Menge an organischen Inhaltsstoffen bei den Adsorbenten erklärt werden (GERBA und McLEOD, 1976).

Nach den Untersuchungen von KUDRYAVTSEVA (1970) ist die Überlebensdauer von E. coli der Partikelgröße umgekehrt proportional. Im sorbierten Zustand überlebte E. coli 200 Tage. MERKLI (1974) konnte zeigen, daß die Elimination der adsorbierten parasitären Bakterien langsamer erfolgt.

Beim Transport zu festen Oberflächen und bei der Anlagerung von Mikroorganismen werden physikalisch-chemische Faktoren wirksam, die als sog. Filtrationsfaktoren in der Tabelle 2 aufgeführt sind.

Tabelle 2: Filtrationsfaktoren in porösen Medien (nach MATTHEB, 1980)

T R A N S P O R T	A N L A G E R U N G
Diffusion	van der Waal'sche Kräfte
Sedimentation	Elektrostatische Kräfte
Einfangmechanismen (Interception)	Adsorption
Hydrodynamische Effekte (Trägheit)	Chemische Vorgänge

Die Adsorption an feste Partikel ist neben der empirisch gemessenen Filterwirksamkeit eines Grundwasserleiters, α_f -Wert nach IWASAKI (1937), eine wichtige Steuergröße für das Transportverhalten von Bakterien. Dieser Vorgang ist zugleich einer der wichtigsten Mechanismen für die Elimination von in den Grundwasserbereich eingedrungenen Bakterien (BUTLER et al., 1954; ROMERO, 1970).

Für die Adsorption sind die Schnelligkeit der Gleichgewichtseinstellung und die Bakteriendichte von Bedeutung. Faktoren, die das Adsorptionsverhalten von Mikroorganismen beeinflussen, wie Ionengehalt des Wassers (MERKLI, 1974; MÜLLER & HICKISCH, 1970; MARSHAL, 1971; TEZUKA, 1967), pH-Wert (GERBA und GOYAL, 1978), organische Stoffe (BERGE et al., 1967; SCHEUERMAN et al., 1979), Tenside (ROBECK et al., 1962; VETRILE, 1972), Fließgeschwindigkeit (ROBECK et al., 1962), Temperatur (SCHWEISFURTH und KLOTZ, 1979) und Gesteinseigenschaften (MERKLI, 1974; MÜLLER und HICKISCH, 1970) beeinflussen auch das Transportverhalten.

Transportdauer und -strecken der Bakterien im Grundwasser hängen von den genannten Faktoren ab, die in einer komplexen Wechselwirkung den gesamten Transportvorgang beeinflussen. Einige typisch Beispiele für den Transport der Bakterien im Grundwasser sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Wie ersichtlich, beträgt die Transportstrecke von Enterobakterien in porösen, sandigen Grundwasserleitern trotz unterschiedlicher Ausgangsbedingungen meist 30 - 100 m, und eine Überlebenszeit im Untergrund von bis zu 187 Tagen (E. coli) wurde von STILES und CROHURST (1923) beobachtet. Unter Berücksichtigung der Adsorptionskapazität pro Oberflächeneinheit und der Adsorptionskinetik errechneten DRADOVSKAJA und MOLOZAVJA (1979) in sandigen Grundwasserleitern für E. coli eine Abnahme um 10^4 auf einer Transportstrecke von 10 - 15 m.

Für lehmigen Sand finden sich Angaben von 1,5 bis 1000 m (Tabelle 3). Die große Streuung beruht wahrscheinlich auf der hohen Inhomogenität dieser Sedimente. Auf die Transportgeschwindigkeit sind kaum Rückschlüsse möglich, da Zeitangaben meist fehlen (RENEAU und PETTRY, 1975).

Tabelle 3 Migration von Bakterien im Untergrund

Mikroorganismus	Versuchsform	Boden	Distanz	Zeit	Eliminationsrate	Literatur
Coliforme	Feldvers. Abw.	Sand, Kies	830 m	-	-	CERRA et al. 1975
Coliforme	" "	feiner Lehm sand Kies	30 m	-	-	"
Coliforme	Verd. Abw. im Brunnen	Sand, Kies	100 ft	35 h	-	"
Coliforme	Feldvers. Abw.	Grobkies	1500 ft	2 d	-	"
Coliforme	" "	Fein- bis Mittelsand	20 ft	-	-	"
Coliforme	" "	Sand, Kies	3 ft	-	-	"
<i>E. coli</i> $10^6/100$ ml	künstl. Sicker- strecke	Sand und Schotter	32 m	-	2 ± 10^6	SCHMASSMANN 1972
<i>E. coli</i>	künstl. Grundwasser- anreicherung	Sand und Schotter	55 m	2,5 d	1 ± 500	"
Bakterium <i>stearothermophilus</i>	Feldversuch	Granitbruch	94 ft	24 - 30 h	-	ALLEN u. MORRISON 1973
Streptokokken und Coliforme	Abw. grube Feldversuch	Lehm sand	15,25 m	-	-	VIRARACHAVAN 1976
<i>E. coli</i>	Feldversuch	versch. Böden	24 - 122 m	-	-	PATTERSON 1977 nach VIRARACHAVAN 1976
Coliforme	" "	"	55 m	-	-	"
<i>E. coli</i> u. <i>Strep. faecalis</i>	" "	Lehm sand	1,5 - 3 m	32 d	-	HAGEDORN et al. 1978
<i>E. coli</i>	" "	Feinsand 0,13 mm	155 m	187 d	-	STILES u. CHORHURST 1923
<i>E. coli</i>	" "	Sand	232 ft	-	-	STILES u. CHORHURST 1923 nach BUTLER 1954
Coliforme $10^5 - 10^6/100$ ml	Abw. infiltration	Lehm sand	91 m	-	auf 0 - 100/100 ml	BOUTER 1974
<i>E. coli</i> 1.000 - 5.000/ml	Feldversuch	Dünnsand 0,15 mm	8,6 m	-	auf 0/100 ml	BAARS 1961
Coliforme	Abw. versickerung	Lehm sand	> 1.000 m	-	-	REBEAU 1975
Coliforme $70 \pm 10^3/100$ ml	Abw. versickerung	Virginia-Böden	> 12,5 - 28 m	-	auf $5 \times 10^3/100$ ml	"

In kiesigen Sedimenten reichen nach KELLER (1972) 130 m Fließweg nicht aus, um eine tolerierbare Bakterieneliminierung zu erreichen. Diese Erkenntnis stützt sich auf die Auswertung der Typhusepidemie in Neuötting, bei der die Erreger innerhalb einer errechneten Aufenthaltszeit von 3 Tagen 130 m im Grundwasser zurücklegten (1,8 m/h).

Große Transportstrecken legten coliforme Bakterien in anderen untersuchten kiesigen Aquifern mit jeweils hohen Geschwindigkeit zurück (500 m in 2 Tagen entsprechend 10,4 m/h nach GERBA et al., 1975).

SCHAUB und SORBER (1977) wiesen nach einer Abwasserversenkung in sandig-kiesigen Grundwasserleitern in 18,3 m tiefen Versuchsbrunnen Enterobakterien und Viren nach 48-stündiger Aufenthaltszeit und 183 m Transportstrecke nach.

3. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

Die Untersuchungen über das Verhalten einiger relevanter Mikroorganismen im Grundwasser wurden in zwei Phasen durchgeführt, wovon die erste weiter gegliedert wurde:

- I. Versuche über die Lebensdauer ausgewählter Mikroorganismen in:
 - a. Berliner-Grundwasser (GW), steril membranfiltriert;
 - b. GW angereichert durch C und N in Form von Huminsäure und Kaliumnitrat;
 - c. GW mit natürlichen mineralischen Bausteine (Sanden) eines Grundwasserleiters;
 - d. GW mit natürlichen Sanden und angereichert mit C und N.
- II. Versuche über das Adsorptionsverhalten ausgewählter Mikroorganismen in einem im Labor simulierten Grundwasserleiter.

3.1 M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

3.1.1 Testorganismen

Alle nachstehend beschriebenen Experimente erfolgten mit den in der Tabelle 4 aufgeführten Mikroorganismen. Bei der Auswahl wurden Pathogenität, Indikatorfunktion und Häufigkeit des Vorkommens dieser Mikroorganismen unter natürlichen Bedingungen berücksichtigt.

Tabelle 4: Auflistung der Testorganismen

M I K R O O R G A N I S M U S	B E Z U G S Q U L L E
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 11229
<i>Salmonella typhimurium</i>	BGA-Stammsammlung
<i>Yersinia enterocolitica</i> -Gruppe	8980/77 (Dr. Pietzsch)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DVG-Stamm
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 566511
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 6057
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 12826
<i>Bacillus megaterium</i>	NCTC 5635
<i>Clostridium perfringens</i>	NCTC 8239
<i>Aspergillus niger</i>	BGA-Stammsammlung
<i>Nocardia alba</i>	DSM 43130
<i>Streptomyces griseus</i>	BGA-Stammsammlung

3.1.2 Medien

Die Aufbewahrung der Stammkulturen von *E. coli*, *S. typhimurium*, *Ps. aeruginosa*, *Y. enterocolitica*, *Staph. aureus*, *Str. faecalis*, *B. cereus*, und *B. megaterium* erfolgte auf Brain-Heart-Infusion-Agar (Difco B 418) bei +4° C; von *Cl. perfringens* bei Zimmertemperatur in 10 ml Robertson's Cooked-Meat-Medium in Röhrchen mit sterilem Paraffin überschichtet; von *A. niger* und *N. alba* bei Zimmertemperatur auf Bierwürzeextrakt-Agar; und von *Streptomyces griseus* bei Zimmertemperatur auf DSM-Medium 65.

Für die Kultivierung und Reisolierung der Mikroorganismen wurden folgende Medien verwendet:

Brain-Heart-Infusion-Agar (Difco B 418) (BHI) zur Anzüchtung und Aufbewahrung von E. coli, S. typhimurium, Ps. aeruginosa, Y. enterocolitica, Staph. aureus, Str. faecalis, B. cereus und B. megaterium.

Endo-Agar (BBL Kat. Nr. 11199) zum Nachweis von E. coli.

Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar (modifiziert) (Oxoid CM 329) zum Salmonellanachweis.

Flo-Agar (BBL Kat. Nr. 11258) zum Nachweis von Ps. aeruginosa.

Baird-Parker-Medium (Oxoid CM 275) zum Nachweis von Staph. aureus.

Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar (Merck Art Nr. 5222) zum Nachweis von Str. faecalis.

SPS-Agar (Perfringens-Selektivagar nach ANGELOTTI, Merck Art Nr. 10235) zum Nachweis von Cl. perfringens.

Fleisch-Fleischbouillon nach Robertson (Oxoid CM 82) für die Anzüchtung und Aufbewahrung von Cl. perfringens.

McKonkey-Agar (Oxoid CM 7) zum Nachweis von Y. enterocolitica

Malzextrakt-Pepton-Agar (Bierwürze-Pepton-Agar, Oxoid CM 59) zur Anzüchtung von A. niger und N. alba.

Streptomyces-Medium (M-65 gemäß DSM); Zusammensetzung g/l: Glucose 4; Hefeextrakt 10; Malzextrakt 10; Agar 12; pH 7,2 für die Anzüchtung von Streptomyces griseus.

3.1.3 Wasser

Für alle Versuche wurde das Grundwasser eines pleistozänen, glazifluviatilen Grundwasserleiters, der durch einen ca. 40 m tiefen Brunnen der Berliner Wasserwerke in Beelitzhof - Großes Fenster, Wannsee, erschlossen ist, verwandt. Das Wasser wurde durch Sartorius Membranfilter Typ SM 1140 sterilfiltriert. Das filtrierte Grundwasser wurde in sterilen Gefäßen bei 10°C aufbewahrt. Seine physiko-chemischen Eigenschaften wiesen nach den Untersuchungen der Berliner Wasserwerke im Jahresdurchschnitt folgende Werte aus: $T = 10 \pm 1^{\circ}\text{C}$; $\text{pH} = 7,3$; $\text{O}_2 = 0,8$; $\text{CO}_2 = 23$; $\text{Ca} = 77$; $\text{Mg} = 6,4$; $\text{Na} = 42$; $\text{K} = 2,6$; $\text{Fe}(\text{ges.}) = 0,95$; $\text{Mn}(\text{ges.}) = 0,26$; $\text{NH}_4 = 1,04$; $\text{NO}_3 = 0$; $\text{Cl} = 44,0$; $\text{SO}_4 = 52,4$; $\text{PO}_4 = 0,25$; $\text{F} = 0,25$; $\text{SiO}_2 = 15,0$; $\text{C}(\text{org.}) = 3,4$; Gesamtabdampfrückstand = 486 (quantitative Angaben in mg/Liter).

Als Stickstoff- bzw. Kohlenstoffquelle für die Versuche Ib und Id wurden Kaliumnitrat (Merck) bzw. Huminsäure (Fluka) verwendet.

3.1.4 Mineralische Bausteine der Modellgrundwasserleiter

Zum Bau der Modellgrundwasserleiter wurden saale-eiszeitliche Schmelzwassersande aus dem Grundwasserleiter im Seegeberger Forst, 40 km nördlich von Hamburg verwendet. Sie wurden vom geologisch-paläontologischen Institut der Universität Kiel zur Verfügung gestellt. Die geochemischen und sedimentologischen Analysen dieser Sande wurden vom gleichen Institut durchgeführt und von MATTHEß (1980) wiedergegeben.

Folgende Fraktionen der zur Verfügung gestellten Sande wurde in den Versuchen eingesetzt:

- a. Grobsand (Korngröße $> 0,63$ mm)
- b. Mittelsand (Korngröße $> 0,20$ mm)
- c. ungesiebter Sand.

Eine andere Vorbehandlung des Sandes wurde nicht vorgenommen, jedoch wurde durch mikrobiologische Kultivierungstest festgestellt, daß er frei von den zu untersuchenden Mikroorganismen war.

3.1.5 Herstellung von Mikroorganismensuspensionen

Bei der Herstellung der Mikroorganismensuspensionen wurde wie folgt verfahren:

Reinkulturen von E. coli, S. typhimurium, Ps. aeruginosa, Y. enterocolitica, Staph. aureus, Str. faecalis, B. cereus, und B. megaterium wurden von Schrägagar auf BHI-Agar Platten ausgestrichen und bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ über Nacht bebrütet. Danach wurde 5 ml sterilfiltriertes und autoklaviertes Grundwasser auf jede Platte pipettiert. Mit einem sterilen Drigalski-Glaspatel wurden die Kolonien aufgeschwemmt. Die Keimsuspension wurde abgesaugt und in sterile Zentrifugenröhrchen übergeführt. Die Mikroorganismen wurden dann 2 mal bei 8000 U/min, und $+4^{\circ}\text{C}$ zentrifugiert, mit sterilem Phosphat-Puffer pH 7 gewaschen und anschließend in 7 ml sterilem filtrierten Grundwasser suspendiert. Zur Bestimmung der Keimzahl in den Suspensionen wurde eine dezimale Verdünnungsreihe hergestellt.

Nach dem Verdünnungsvorgang wurde aus gut durchgeschüttelten Verdünnungsstufen 10^{-6} - 10^{-8} 0,1 ml der Suspension zu einer dreifachen Koloniezahlbestimmung auf Agarplatten ausgespatelt. Die Koloniezählung erfolgte nach 18 - 24 h Bebrütungszeit. Für die Berechnung der Keimkonzentration in den Suspensionen wurden Platten mit Koloniezahlen zwischen 30 und 300 pro Platte berücksichtigt.

Zur Herstellung der Keimsuspension von Cl. perfringens wurden 10 sterile Röhrchen je mit 10 ml Robertson's Fleisch-Fleischbouillon abgefüllt. Das Medium wurde dann mit einer Öse Stammkultur beimpft. Die beimpften Röhrchen wurden in einem BBL-Anaerobier-System bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ über Nacht bebrütet. Nach

der Bebrütung wurde die Bouillon sorgfältig abpipettiert und in sterile Zentrifugierröhrchen übergeführt. Die Kultur wurde zweimal wie o.a. zentrifugiert und anschließend in 7 ml sterilem Grundwasser suspendiert. Die Keimzahlbestimmung erfolgte durch Herstellung einer Verdünnungsreihe und Ausspateln von 0,1 ml auf SPS-Agar (Dreifachbestimmung). Die Platten wurden ebenfalls in einem BBL-Anaerobien-System bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ über Nacht bebrütet.

N. alba bzw. A. niger wurden auf Malzextrakt-Pepton-Agar ausgestrichen und bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 24h bzw. 3 Tage bebrütet. Nach der Bebrütung wurden 5 ml steril filtrierte Grundwasser auf jede bewachsene Platte pipettiert. Mit sterilem Drigalski-Spatel wurden der Rasen von N. alba bzw die Sporen von A. niger abgeschwemmt und in sterile Zentrifugierröhrchen überführt. Die Mikroorganismen bzw. Sporensuspension wurde, wie schon beschrieben, zentrifugiert und gewaschen.

Für Streptomyces griseus wurden M-65 Platten verwendet und der gleiche Vorgang wie oben durchgeführt. Allerdings erfolgte die Bebrütung hier stets 5 - 6 Tage bei 22°C . Die Keimzahlbestimmung für A. niger und S. griseus erfolgte durch das Gußplattenverfahren.

3.2 V E R S U C H S D U R C H F Ü H R U N G

3.2.1 Überleben der in Grundwasser suspendierten Testorganismen.

Zur Bearbeitung dieser Fragestellung wurden statische Versuche - "Batch-Versuche" - mit 500 ml Grundwasser in 1 l Erlenmeyerkolben angesetzt. Die Kolben wurden unter aseptischen Bedingungen mit der jeweiligen gewaschenen Reinkultur beimpft, so daß die Keimzahl im Grundwasser 10^5 bis 10^6 /ml betrug. Für jede Kultur wurden drei Parallelgefäße angesetzt. Die Erlenmeyerkolben wurden steril verschlossen und in einer Kühlzelle bei $10 \pm 1^\circ \text{C}$ dunkel aufbewahrt. Die erste Probeentnahme erfolgte sofort nach der Beimpfung. Weitere Probenahme wurde nach 1, 2, 5, 10, 20.....100 Tagen bzw. bis zum 300. Tag durchgeführt. Vor jeder Probeentnahme wurden die Erlenmeyerkolben gut durchgeschüttelt, um die Mikroorganismen gleichmäßig in dem Wasser zu verteilen.

Das Durchschütteln erfolgte auf einer horizontalen Schüttelmaschine (MS Typ A1, Fa. Edmund Bühler, Tübingen) bei Stufe 5 für 10 min. Nach diesem Vorgang wurden die Kolben in einer Lamina-Flow Kabine gebracht und die zu untersuchenden Proben sofort entnommen. Mit einer sterilen 5 ml Pipette wurden 2 ml, möglichst aus der Mitte des Wassers, entnommen und in sterile, vorher beschriftete Röhrchen pipettiert.

Von jeder entnommenen Probe wurde eine Verdünnungsreihe mit sterilem Grundwasser bis zur Verdünnungsstufe 10^{-4} hergestellt und 0,1 ml ausgespatelt, bzw. 1 ml für das Gußplattenverfahren (A. niger und Streptomyces griseus) verwendet. (Bestimmung der Koloniezahlen s. Abschnitt 3.1.5). Die während der Versuche durchgeführten pH-Messungen von Grundwasser erfolgten elektrometrisch (Knick - Mikroprozessor pH-Meter, Typ 740).

3.2.2 Überlebensdauer von Testorganismen in einem gesättigten grundwasseraquiferähnlichen Milieu

Die drei Sandfraktionen (s. 3.1.4) wurden zunächst auf ihre bakteriologische Beschaffenheit untersucht. Die Untersuchung des Sandes wurde wie folgt durchgeführt:

50 g je Sandfraktion wurde gewogen und in sterile 1 l Erlenmeyerkolben übergeführt. 450 ml steriles Leitungswasser wurde dazu gegeben und die Kolben auf einem Schüttler (s. 3.2.1) bei Stufe 5 für 10 min geschüttelt. Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe in sterilem Leitungswasser bis zur Verdünnungsstufe 10^{-6} hergestellt. Für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl wurde von jeder Verdünnungsstufe 1 ml zur Zweifachbestimmung in sterile Petrischalen pipettiert und anschließend mit 10 - 15 ml Standard-Keimzahlagar, Merck Art Nr. 1621, (temperiert auf 48°C) übergossen und gut gemischt. Nachdem der Agar fest geworden war, wurden die Platten bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ bebrütet. Die Zählung der Kolonien erfolgte nach 24 bzw. 48 h.

Für den Nachweis von E. coli, S. typhimurium, Ps. aeruginosa, Y. enterocolitica, Staph. aureus, Str. faecalis, B. cereus und B. megaterium wurden aus jede Verdünnungsstufe 0,5 ml im zweifachen Ansatz auf Endo-Agar, Brilliantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar, Flo-Agar, MacKonkey-Agar, Baird-Parker-Agar, Kanamycin-Äsculin-Azid-Agar bzw. Brain-Heart-Infusion-Agar ausgespaltet und die Platten über Nacht bei $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ bebrütet. MacKonkey-Platten wurden bei 22°C 48 h bebrütet.

Für den Nachweis von Clostridien-Sporen wurden 5 ml aus jeder Verdünnungsstufe entnommen und in sterile Röhrchen pipettiert. Die Röhrchen wurden anschließend in ein auf 80°C temperiertes Wasserbad übergeführt. Die Proben verblieben dort 20 min und wurden anschließend schnell mit kaltem Wasser abgekühlt. Nach der Abkühlung wurde 1 ml von jede Verdünnungsstufe zur Zweifachbestimmung entnommen und in sterile Petrischalen pipettiert

und anschließend mit 10 - 15 ml Clostridien-Agar (RCM), Merck Art Nr. 5410, (temperiert auf ca. 48° C) übergossen und gut gemischt. Nachdem der Agar fest geworden war, wurden die Platten in einem BBL-Anaerobier-System bei 37° C bebrütet.

Für den Nachweis von Pilzen wurde 1 ml aus jeder Verdünnungsstufe in sterile Petrischalen pipettiert und anschließend mit 10 - 15 ml auf ca. 48° C erhitzten Malzextrakt-Agar (Oxoid CM 59) übergossen. Die Platten wurden dann 2 bis 7 Tage bei 22° C bebrütet.

Die Untersuchung ergab eine Koloniezahl von $2,6 \times 10^1/\text{g}$ für ungesiebten und Mittelsand und von $4,0 \times 10^1/\text{g}$ für Grobsand. Keiner der ausgewählten Testorganismen konnte in 50 g Sand nachgewiesen werden. Für die eigentlichen Untersuchungen stellten diese niedrige Koloniezahlen im Sand somit keine Gefahr dar. Auf eine Vorbehandlung des Sandes wurde daher verzichtet.

Von jeder Sandfraktion wurden 350 g abgewogen und in sterile 1-Liter Erlenmeyerkolben übergeführt. Dann wurden 500 ml steril filtrierte Grundwasser zugegeben. Das Gemisch wurde mit der jeweiligen Mikroorganismensuspension, wie unter 3.2.1 angegeben, beimpft und gut vermischt durch Schütteln für 10 min wie unter 3.2.1. Die Entnahme der zu untersuchenden Proben erfolgte in der Lamina-Flow Kabine. 2 ml wurden mit einer sterile 5 ml-Pipette entnommen, eine Verdünnungsreihe hergestellt und anschließend wie unter 3.2.1 auf die eingegebenen Mikroorganismen untersucht. Die Bebrütung der Kulturen und die Bestimmungen der jeweiligen Keimzahl erfolgten wie oben beschrieben.

3.2.3 Überlebensrate von Testmikroorganismen in einem mit C und N angereicherten Grundwasser.

Nitrat und Huminsäure können unter Freilandbedingungen mit Sickerwasser aus dem Boden bis in den Grundwasserleiter gelangen (GILLHAM et al., 1968; DUKE et al., 1978). Wir sind deshalb der Frage nachgegangen, ob die Überlebensrate der ausgewählten Mikroorganismen durch Zugabe dieser beiden Substanzen, die möglicherweise als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle verwertet werden können, unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen beeinflusst wird.

Huminsäure (Fluka) und Kaliumnitrat (Merck) wurden in den Versuchen verwendet. Der Gesamtstickstoff- und der Kohlenstoffgehalt der Huminsäure wurde oxidimetrisch bzw. mittels Mikrokedahlverfahren bestimmt ¹⁾. Beide Nährstoffe wurden im Verhältnis C : N von 10 : 1 zugesetzt. Dies Verhältnis von 10 : 1 wurde gewählt, da es dem natürlichen Vorkommen von Kohlenstoff und Stickstoff im Boden entspricht ²⁾. Die Konzentration betrug 50 mg/l für Kaliumnitrat und 1,1 g/l für Huminsäure. Die Durchführung der Keimzahlbestimmung verlief wie unter Abschn. 3.2.1 bzw. 3.2.2 angegeben.

3.2.4 Versuche zur statischen Adsorption.

Zur Feststellung des Adsorptionsverhaltens einiger ausgewählter Testorganismen gegenüber drei verschiedenen Sandfraktionen, (Fein-, Mittel- und Grobsand) wurden statische Versuche (Batch-Versuche) durchgeführt. Unter Berücksichti-

1) Die Bestimmung erfolgte im Fachgebiet Mikrobiologie des Institut für Wasser, Boden und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes.

2) FILIP, Z. persönl. Mitteilung, 1983.

gung von Literaturangaben (MERKLI, 1974 und HENDRICKS et al. 1979) und einiger Vorversuche wurde folgende Versuchsanordnung gewählt: Sandfraktionen in Mengen von 0,1; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; und 10 g wurden abgewogen und je in einen sterilen 100-ml Erlenmeyerkolben übergeführt. 9 ml steril filtrierte Grundwasser wurden in den Kolben pipettiert und auf einem horizontalen Schüttler mit dem Sand vermischt. Ein Kontrollkolben wurde mit Grundwasser ohne Sandfraktion angesetzt. Das Sand-Grundwasser-Gemisch wurde anschließend mit einer Mikroorganismensuspension beimpft. Die Endkonzentration betrug rechnerisch 10^4 /ml für Str. faecalis und 10^5 /ml für E. coli, S. typhimurium und Ps. aeruginosa. Nach der Keimzugabe wurden die Kolben 30 min lang auf einem horizontalen Schüttler geschüttelt. Anschließend wurden die Proben 2 h stehengelassen. Der Überstand wurde mit einer sterilen 5-ml Pipette entnommen und in sterile Röhrchen übergeführt. Eine Verdünnungsreihe wurde hergestellt und anschließend auf die eingegeben Testkeime hin untersucht. Der prozentuale Anteil der adsorbierten Bakterien (A %) wurde nach der Gleichung

$$A \% = \frac{C_o - C_t}{C_o} \times 100 \quad \text{berechnet.}$$

C_o = Anzahl frei suspendierter Bakterien
in sandfreien Kontrollkolben

C_t = Anzahl frei suspendierter Bakterien
in den mit Sand beschickter Kolben.

3.3 E R G E B N I S S E

3.3.1 Überlebensdauer der Mikroorganismen im Grundwasser mit und ohne Zusatz von Sand und von Nährstoffen.

Das Verhalten der untersuchten Bakterien während einer 300 täglichen Verweildauer im Grundwasser bei einer Temperatur von $10^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{ C}$ ist aus der Abbildung 1a (S. 69) ersichtlich. Dem Verlauf der Kurven ist zu entnehmen, daß in dem Grundwasser zwar keine nennenswerte Vermehrung der Bakterien stattfand, daß jedoch die Überlebensrate in einem Zeitraum von 300 Tagen bei den meisten Testkulturen als hoch bis sehr hoch bezeichnet werden kann. Lediglich die Koloniezahl von B. cereus, B. megaterium und Staph. aureus nahmen bereits nach 10 Tagen um 2 bis 6 Zehnerpotenzen (von 10^5 bzw. von 10^6 auf 10^2 , 10^0 bzw. 10^4) ab. B. megaterium konnte bereits nach 12 Tagen nicht mehr nachgewiesen werden; am 30. Tag war auch Staph. aureus nicht mehr nachweisbar. Bei B. cereus kam es nach einem anfänglichen Rückgang zu einer Stabilisierung der Keimzahl, die dann bis zum 300. Tag so gut wie unverändert blieb. Hier, wie auch bei Cl. perfringens, ist in der Bildung von resistenten Sporen der Grund für die nahezu konstanten Koloniezahlen während der 300 täglichen Versuchsperiode zu sehen. B. megaterium, ebenfalls ein Sporenbildner, war unter den gegebenen Versuchsbedingungen offensichtlich nicht imstande, Sporen zu bilden. Während bei B. cereus eine Reduktion von 99,9 % bis zum 300. Tag zu verzeichnen war, konnte bei Cl. perfringens nur eine 90 %-ige Reduktion beobachtet werden. Dieser Sachverhalt deutet daraufhin, daß die Sporen von Cl. perfringens widerstandfähiger waren als die Sporen von B. cereus unter den Versuchsbedingungen.

Bei Str. faecalis, wurde ein Rückgang um fast 3 Zehnerpotenzen (99,99 % Reduktion) nach der Versuchsperiode von 300 Tagen festgestellt. Y. enterocolitica blieb ebenso überlebensfähig wie Ps. aeruginosa, wobei die beiden Mikroorganismen bis zum 300. Tag um ca. 2 Zehnerpotenzen abnahmen. Während E. coli nur bis zum 250. Tag nachgewiesen werden konnte, blieb S. typhimurium bis zum 300. Tag im Grundwasser bei einer Keimzahl um $10^1/\text{ml}$ vermehrungsfähig erhalten. Dies entspricht eine Reduktion von 99,999 %.

In Abbildung 1b (S. 69) sind die Ergebnisse der Überlebensdauer von N. alba, Str. griseus und A. niger dargestellt. Mit einem Zeitraum von 300 Tagen ist die Überlebensrate bei Str. griseus und N. alba als sehr hoch zu bezeichnen. Bei A. niger war ein Rückgang um 3 Zehnerpotenzen (99,9 %) bis zum 300. Tag zu verzeichnen.

Die Abbildungen 2a - 13a bzw. 2b - 13b (S. 70 - 81) zeigen das Verhalten der Testmikroorganismen in einem grundwasserleiterähnlichen Milieu ohne und mit Zusatz von Nährstoffen. Verglichen mit Grundwasser allein gingen die Keimzahlen von E. coli in der mit Grundwasser gesättigten Sandschicht etwas schneller zurück (Abb. 2a, S. 70). Am 50. Tag lag der Rückgang bei 98 - 99 % (von 10^6 auf $10^5 - 10^4$ Kolonien/ml) und er erreichte bis 99,99 % (von 10^6 auf 10^2 Kolonien/ml) nach 100 Tagen, ohne daß besondere Unterschiede zwischen den 3 Sandfraktionen sichtbar waren. Nach 100 Tagen waren dann noch immer zwischen $10^2 - 10^4$ vermehrungsfähige

Keime/ml Grundwasser vorhanden. Dabei blieb offen, ob die etwas geringere Keimzahl in den Varianten mit Sandzugabe gegebenenfalls auf eine sorptive Rückhaltung von E. coli Zellen zurückzuführen waren. Durch die Zugabe von Nährstoffen (Abb. 2b, S. 70) war die Überlebensdauer zu keinem Zeitpunkt eindeutig begünstigt. Nach dem 80. Tag nahm die Keimzahl exponentiell ab. In den Varianten mit Mittelsand zeigte sich eine Vermehrungstendenz zwischen dem 50. und 70. Tag. Zwischen dem 70. und 100. Tag war auch eine geringfügiger Vermehrung in der Variante mit der ungesiebten Sandfraktion festzustellen. Dieser Sachverhalt ist möglicherweise auf der Vorhandensein von Nährstoffen zurückzuführen.

Bei S. typhimurium (Abb. 3a, S. 71) konnte bis zum 100. Tag kein Unterschied zwischen Versuchen ausschließlich mit Grundwasser und den Varianten mit grundwassergesättigten Sandgemischen festgestellt werden.

Bei den Untersuchungen mit angereichertem Grundwasser mit C und N (Abb. 3b, S. 71) fällt auf, daß die Absterberaten generell, und zwar namentlich auch in der Probe, die nur Grundwasser enthielt, niedriger waren als in der ersten Versuchsreihe, in der lediglich der Einfluß des Sandzusatzes geprüft wurde. Es muß hier erwähnt werden, daß in der ersten Versuchsreihe nach hauseigenem Rezept hergestellte Brillantgrün-Agar-Platten verwandt wurden. Später wurde der modifizierte Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar von Oxoid CM 329 gebraucht. Da die Salmonellen während der Aufbewahrung bei $+10^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{ C}$ eine subletale Schädigung erleiden können, ist anzunehmen, daß die Brillantgrün-Agar-Platten nach hauseigenem Rezept für den Nachweis von geschädigten S. typhimurium-Keimen ungeeignet waren. Ähnliche Beobachtungen wurden auch während der Untersuchungen von E. coli auf Endo-Agar gemacht, wo in der ersten Versuchsreihe auch Agar-Platten hauseigener Herstellung verwandt wurden.

Innerhalb der zweiten Versuchsreihe mit S. typhimurium führte die Zugabe von Nährstoffen zu einer deutlich höheren Absterberate als im nährstofffreien Grundwasser. So wurde ein Rückgang der Koloniezahl von fast zwei Zehnerpotenzen (99 % Reduktion) in den Versuchen mit angereichertem Grundwasser bis zum 100. Tag beobachtet, während in den Versuchen mit Grundwasser allein die Koloniezahl sich nur geringfügig veränderte. Die Zahl der Überlebenden Keime in den Varianten mit Mittelsand lag fast 2 log höher als in den Varianten mit Grob- und ungesiebttem Sand. Ähnlichen Beobachtungen sind auch in Untersuchungen mit E. coli gemacht worden

Demgegenüber begünstigten die durch Sieben des Originalsediments erhaltenen Mittel- bzw. Grobsandfraktionen in den ersten Versuchstagen eindeutig die Vermehrung von Ps. aeruginosa (Abb. 4a, S. 72), dessen Keimzahl in den ersten 10 Tagen zunahm. Auf einem erhöhten Niveau von 10^7 Zellen/ml ist dann Ps. aeruginosa in der Variante mit Feinsandzugabe bis zum 100. Tag, von einigen kleinen Schwankungen abgesehen, unverändert geblieben. Bei der Versuchsvariante mit Grobsand nahm die Keimzahl bis zum 60. Tag jedoch exponentiell ab. Danach blieb die Keimzahl bis zum 100. Tag stabil. Ein Rückgang der Zellzahl um ca. 99,9 % bis zum 100. Versuchstag wurde in der Variante mit ungesiebttem Sand festgestellt, während eine Abnahme von nur 90 % im Grundwasser allein zu verzeichnen war.

Die Ergebnisse der Untersuchungen mit angereichertem Grundwasser (Abb. 4b, S. 72), zeigen, daß die Keimzahl von Ps. aeruginosa mehr oder weniger stabilisiert wurde, soweit zuvor im Gemisch mit Grobsand und ungesiebttem Sand eine Keimzahlreduktion eingetreten war. Bis zum 100. Versuchstag lag der Keimzahlrückgang um nur 1 log, d.h. um 90 %.

Y. enterocolitica zeigte im simulierten Grundwassermilieu während der ersten 15 Versuchstage bei ungesiebttem Sand eine Vermehrung, jedoch war danach hier wie beim Grobsand eine Abnahme bis zum 50. Tag zu verzeichnen (Abb. 5a, S. 73). Ein Rückgang der Keimzahl um ca. 99 % wurde im Versuch mit Grobsandzugabe festgestellt. Bis zum 100. Tag kann aber die Abnahme als im allgemeinen geringfügig bezeichnet werden.

In den Untersuchungen mit Nährstoffzugabe zeigte Y. enterocolitica in den Versuchsvarianten mit Grob- und ungesiebttem Sand ein Rückgang von $1\frac{1}{2}$ log, d.h. um 99 % bis zum 60. Tag (Abb. 5b, S. 73). In der Variante mit Mittelsand blieben die Keimzahlen, wie schon in den letzten beiden Zeitdritteln der Versuche ohne Nährstoff, auf deutlich höherem Niveau.

Bei Staph. aureus lag die Überlebensdauer im Grundwasser bei 25 Tagen (Abb. 6a, S. 74). Unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen (in Anwesenheit von Sand) verlängerte sich zwar die Überlebensdauer, jedoch war immer eine Reduktion von 99,9999 % (von 10^6 auf 10^0 Keime/ml) spätestens nach 48 Tagen zu verzeichnen.

Durch die Zugabe von Nährstoffen wurde die Überlebensdauer von Staph. aureus verlängert (Abb. 6b, S. 74). Im Grundwasser mit Zusatz von Nährstoffen einschließlich der Versuchsvariante mit Mittelsand, war die Überlebensdauer bis zum 64. Tag verlängert. In den Versuchsvariante mit Grobsand wurde eine Verlängerung bis zu 54. Tag beobachtet. Beim ungesiebtten Sand war der Einfluß der Nährstoffzugabe geringer als bei den anderen Versuchsvarianten. Hier überlebten die Keime nur bis zum 45. Versuchstag.

Abgesehen von einer Reduktion um ca. 99 % in der Variante mit ungesiebttem Sand, zeigte Str. faecalis eine ziemlich stabile Keimzahl bis zum 50. Tag (Abb. 7a, S. 75). Bis zum 100. Tag nahmen die Zahlen auch in den anderen Varianten mit Sandzugabe um ca. 99 % ab, während im Grundwasser allein die

Abnahme nur um 90 % lag. Nach Zugabe von Nährstoffen wurde in der Variante mit ungesiebttem Sand eine Reduktion von 99,99 % beobachtet (Abb. 7b, S. 75). In den Versuchsvarianten mit Grob- und Mittelsand blieb die Keimzahl nach einer Reduktion von 99 % innerhalb der ersten 30 Tage bis zum 100. Tag fast unverändert.

Bei B. cereus (Abb. 8a, S. 76) kam es nach einem schnellen Rückgang von 99,9 % in den ersten 10 Tagen zu einer Stabilisierung der Zellzahl, die dann bis zum 100. Tag unverändert blieb. Dieses Verhalten war auf die Bildung von Sporen zurückzuführen, die sich während der Versuche nachweisen ließen.

Nach Zugabe der Nährstoffe (Abb. 8b, S. 76) verringerte sich die Keimzahl bis zum 100. Versuchstag überhaupt nicht. Dieser Sachverhalt könnte mit einer sofort einsetzenden Versporung aller Keime erklärt werden.

B. megaterium (Abb. 9a, S. 77), ebenfalls ein Sporenbildner, war demgegenüber unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht imstande, Sporen zu bilden. Die Überlebensdauer vegetativer Zellen lag dann jeweils unter 20 Tagen. Die Zugabe von Nährstoffen hatte keinen Einfluß auf die Überlebensdauer vegetativer Zellen, und Sporen wurden auch hier nicht nachgewiesen (Abb. 9b, S. 77).

Bei Cl. perfringens (Abb. 10a, S. 78) blieb die Keimzahl in der 100 tägigen Versuchsperiode unverändert, offensichtlich versporteten sogleich alle Keime oder waren bei der Zugabe zum Grundwasser versport. Bei der Zugabe von Nährstoffen blieb dieses Verhalten unverändert (Abb. 10b, S. 78).

In Abbildung 11a bzw. 12a (S. 79 u. 80) sind die Bestimmungen der Überlebensdauer von Streptomyces griseus und N. alba in Grundwasser allein und in Grundwasser mit Zusatz von Sandfraktionen wiedergegeben. Diese Bakterien der Ordnung Actinomycetales unterscheiden sich von anderen Eubakterien durch ein mehr oder weniger stark ausgeprägtes mycelartiges Wachstum. Sie bilden auch echte Sporen, die jedoch in ihrer Resistenz mit den Endosporen der Bacillaceae nicht vergleichbar sind. Im Verlauf von 100 Tagen zeigten die beiden Actinomyceten unter den Versuchsbedingungen dennoch eine gute Überlebensfähigkeit (Abb. 11a und 12a). Die Zugabe von Nährstoffen brachte keine Veränderung in dem Verhalten von Str. griseus und N. alba (Abb. 11b und 12b, S. 79 u. 80).

Auch Aspergillus niger, ein ubiquitär vorkommenden Pilz mit einer humanpathogenen Bedeutung bildet Sporen, die sich in der Umwelt leicht verbreiten. Abb. 13a (S. 81) zeigt, daß die A. niger Sporen sowohl im Grundwasser allein als auch in den grundwassergesättigten Sandfraktionen sehr lange persistieren können. Es wurde kein Unterschied zwischen den Versuchsvarianten mit Sandfraktionen und Grundwasser allein festgestellt. Die Zugabe von Nährstoffen reduzierte die Zahl der Überlebenden A. niger Sporen im Grundwasser deutlich. Diese Wirkung wurde in den Versuchsvarianten mit Sandzusatz teilweise aufgehoben (Abb. 13b, S. 81).

4.2 Adsorptionsverhalten ausgewählter Testmikroorganismen unter statischen Bedingungen.

Die Messung der Adsorption von E. coli, S. typhimurium, Ps. aeruginosa, und Str. faecalis an verschiedene Sandfraktionen erfolgte im statischen Verfahren (Batch-Versuche).

In den Abbildungen 14 - 17 (S. 82 - 83) sind die Ergebnisse der prozentualen Adsorption der vier Testorganismen bei steigenden Sandmengen dargestellt. Aus den Darstellungen

geht hervor, daß eine 100 %-ige oder annähernd vollständige Adsorption der Keimen durch alle drei Sandfraktionen nur bei Str. faecalis eintrat. Bei den anderen drei Species beschränkte sich der adsorbierbare Anteil der $5 \times 10^4 - 10^5$ /ml. betragenden Keimzahlen bei einer oder zwei der drei Sandfraktionen auf 70 oder 75 % der Keime. Die maximale Adsorption stellte sich in diesen Fällen zumeist bereits bei einer Menge von 2 g (Ps. aeruginosa, MS) 4 g (S. typhimurium, GS) oder 6 g Sand (E. coli, GS; Ps. aeruginosa, FS) ein. Aber auch eine fast vollständige Adsorption der Keime konnte bereits nach Zugabe von 4 g Sand beobachtet werden (S. typhimurium, MS; Str. faecalis, FS). Bei Str. faecalis fällt auf, daß bereits 2 g Sand aller drei Fraktionen genügten, um 80 - > 99 % der Keime zu adsorbieren. E. coli, und S. typhimurium verhielten sich in soweit gleichartig, als von den feinen Sandfraktionen (Fein- und Mittelsand) ein deutlich höherer Anteil der Keime, und zwar 90 % und mehr, adsorbiert wurde als vom Grobsand (70 - 80 %). Bei Ps. aeruginosa waren die Relationen umgekehrt. Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß der relative Anteil von freien zu haftenden Zellen mehr von der Mikroorganismenart und weniger von der verwendeten Sandfraktionen abhängig war.

4. DISKUSSION

4.1 Überlebensdauer der Testorganismen im Grundwasser und unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen.

Die Überlebensfähigkeit der von mir überprüften Mikroorganismen im Grundwasser war sehr unterschiedlich ausgeprägt, bei der Mehrzahl der überprüften Keimspecies jedoch von beachtlicher Dauer. Nur Staph. aureus starb rasch ab und unerwarteterweise auch der überprüfte B. megaterium-Stamm. Der Stamm war nicht in der Lage zu versporen, und die vegetativen Keime besaß offensichtlich keine Überlebensfähigkeit im Grundwasser. Ein weiterer aerober Sporenbildner, B. cereus, erfuhr während der ersten 10 Tage des Aufenthaltes im Grundwasser ebenfalls eine drastische Keimzahlreduktion, die danach vorhandenen Sporen aber garantierten die Überlebensfähigkeit des Keimes bis zum Ende der Beobachtungszeit auf fast unverändertem Niveau. Der überprüfte anaerobe Sporenbildner, Cl. perfringens, zählte zu den Mikroorganismen, die sich am widerstandsfähigsten erwiesen. Die Keimzahl verminderte sich während der gesamten Beobachtungszeit von 300 Tagen um nicht mehr als 90 %. Ähnlich widerstandsfähig war der Str. griseus-Stamm. Mit einer Keimzahlreduktion von log 2 bis 2,5 während der dreihunderttägigen Beobachtungszeit bildeten so unterschiedliche Mikroorganismen wie Str. griseus, Ps. aeruginosa und ein Vertreter der Enterobacteriaceen, Y. enterocolitica, die nächste Gruppe. Die beiden anderen Vertreter der Enterobacteriaceen, E. coli und S. typhimurium, erscheinen dagegen weniger widerstandsfähig. Indessen muß bei der Bewertung der mit diesen beiden Stämmen erzielten Resultate der bereits erwähnte Einfluß der für die Untersuchung verwendeten Nährböden berücksichtigt werden. Auch bei diesen Versuchen wurden, wie im ersten Versuchsdurchgang mit Sandzugabe zum Grundwassermilieu, nach hauseigener Rezeptur her-

gestellter Endo-Agar und Brillantgrün-Phenolrot-Agar verwendet, die sich zur Vermehrung vorgeschädigter E. coli und S. typhimurium-Keime offensichtlich weniger gut eignen.

Die Resultate der Untersuchungen unter grundwasserleiter-ähnlichen Bedingungen differierten bei einigen Mikroorganismen von Versuch zu Versuch. So sieht man bei E. coli in einem Versuch (Abb. 2a, S. 70) eine Verringerung von etwa 3×10^6 auf den Bereich von 10^4 , während in dem anderen (Abb. 2b, S. 70) bei etwa gleicher Ausgangskeimzahl die Verringerung lediglich in den Bereich von 10^5 erfolgt. Bei S. typhimurium verringert sich die Keimzahl in dem einen Versuch auf Werte in dem Bereich von 10^2 (Abb. 3a, S. 71) und bleibt im anderen (Abb. 3b, S. 71) unverändert. Diese Differenzen müssen, wie bereits erörtert, auf die unterschiedliche Herkunft der für die Untersuchung benutzten Nährböden zurückgeführt werden. Enterobacteriaceen können durch ungünstige Bedingungen, wie Aufbewahrung bei niedriger Temperatur, sublethal geschädigt werden. Solche Keime sind zwar vermehrungsfähig, verhalten sich aber gegenüber den Selektivzusätzen in den Nährmedien empfindlich. Wahrscheinlich war der in der jeweils ersten Versuchsreihe (Abb. 2a, 3a) nach haus-eigenem Rezept hergestellte Endo-Agar bzw. Brillantgrün-Phenolrot-Agar für den Nachweis von geschädigten E. coli bzw. S. typhimurium-Keime weniger gut geeignet.

Bei B. cereus erfolgte in dem einem Versuch (Abb. 8a, S. 76) ein Abfall innerhalb der ersten 10 Tage von 10^5 auf etwa 5×10^2 Keimen, deren Zahl in der Folgezeit konstant blieb, während in dem anderen Versuch (Abb. 8b, S. 76) ein allmählicher Abfall innerhalb der ersten 30 Tage auf etwa 2×10^3 stattfand. Für diesen Unterschied kann eine Erklärung nicht gegeben werden.

Bei den anderen Mikroorganismen waren deutliche Unterschiede zwischen den beiden Versuchsreihe nicht festzustellen.

Nach Eliminierung der vermutlich methodisch bedingten Einflüsse auf das Versuchsergebniss läßt die Betrachtung der Resultate erkennen, daß die Zugabe des Sandes zur Simulierung grundwasserleiterähnliche Bedingungen zumeist kein Einfluß auf das Überleben der Keime im Grundwasser hatte, oder es ergaben sich keine eindeutigen Tendenzen. Diese Feststellung trifft zu für Cl. perfringens, B. cereus, B. megaterium, Y. enterocolitica, Str. griseus, N. alba und A. niger. In dem nicht mit Nährstoffen angereicherten Grundwasser war ein deutlicher Einfluß des Sandzusatzes auf die Keimzahl lediglich bei Str. faecalis festzustellen, wo sie beim ungesiebten Sand sofort und den übrigen Sanden vom 50. Tag an unter die Werte der sandfreien Proben abfiel. In der Versuchsreihe mit Nährstoffzusatz war der negative Einfluß des Sandzusatzes auf die Zahl der Überlebenden Keims eher noch stärker ausgeprägt. Bei E. coli war in der zweiten Versuchsreihe bei den nährstoffhaltigen Proben ebenfalls eine deutliche Keimzahlverminderung nach Sandzusatz eingetreten. Ähnliche Resultate ergaben die beiden Versuchsreihen mit S. typhimurium, wo die Sandzugabe eine deutliche Abnahme der Keimzahl um 1 log (99 %-ige Reduktion) oder 2 log (99 %-ige Reduktion) vorübergehend oder über den ganzen Versuchszeitraum herbeiführte. Im Falle der Str. faecalis liegt es nahe die Keimzahlreduzierung nach Sandzugabe in Beziehung zu bringen zu der stark ausgeprägte Adsorption dieses Keimspecies an die Sandpartikeln (Abb. 17, S. 83).

Die im Grundwasser suspendierte Ps. aeruginosa Kultur erfuhr durch die Sandzugabe eine unterschiedliche Veränderung. Bei Vermischung mit Mittelsand war die bei dieser Keimspecies in den ersten 10 Tagen des Aufenthalts im Grundwasser zu beobachtende Keimvermehrung noch verstärkt, und das 10^7 Keime/ml

erreichende Niveau blieb über den Beobachtungszeitraum von 100 Tagen bestehen (Abb. 4a, S. 72). Eine Erklärung, warum der Grobsand und der ungesiebte Sand, im Gegensatz zum Mittelsand, die Keimzahl um ein oder zwei Zehnerpotenzen senkten, kann nicht gegeben werden.

Im Falle des im Grundwasser nur kurze Zeit überlebenden Staph. aureus hatte die Sandzugabe einen positiven Einfluß auf die Überlebenszeit der Keime, sofern das Grundwasser keinen Nährstoff enthielt. Die Überlebenszeit verlängerte sich maximal auf fast das Doppelte (Abb. 6a, S. 74).

Noch weniger häufig als durch die Sandzugabe wurde durch das Zufügen von C und N zum Grundwasser die Überlebensfähigkeit der überprüften Mikroorganismen beeinflusst. Dabei ergab sich im Falle von S. typhimurium sogar ein negativer Effekt, denn nach 100 Tagen enthielt das nährstoffhaltige Grundwasser um mehr als das 10-fache weniger Keime als das nicht angereicherte. Einen begünstigenden Einfluß hatte der Nährstoffzusatz auf das Überleben von Staph. aureus. Die Überlebenszeit verlängerte sich von 30 auf mehr als 60 Tage. Der im nährstofffreien Grundwasser zu beobachtende positive Effekt des Sandes auf die Überlebensrate von Staph. aureus blieb nach Nährstoffzugabe aus oder kehrte sich um.

Eine die Zahl der überlebenden Keime steigernden Effekt entfalteten die Nährstoffe auch auf Str. faecalis.

Schließlich sieht man bei den Untersuchungen mit B. cereus, daß das Vorhandensein der Nährstoffe im Grundwasser die anfängliche Keimzahlverminderung verhinderte (Abb. 8b, S. 76). Offensichtlich fand im nährstoffhaltigen Grundwasser die als Ursache der in der Folgezeit festzustellenden Keimzahlkonstanz angenommene Versporung ohne Verlust an vegetativen Keimen statt.

Die Vielfältigkeit der für die Elimination verantwortlichen Faktoren kann offensichtlich selbst bei derselben Keimspecies zu sehr unterschiedlichen Eliminationsraten führen. Darauf deutet die sehr große Streuung der in der Literatur genannten Eliminationszahlen hin: z.B. werden für eine 99,99 %-ige Elimination von S. typhi im Brunnenwasser Zeitintervalle von 2-107 Tagen angegeben (ALTHAUS et al., 1982). Dieser extreme Unterschied war auf den Qualitätsunterschied des Brunnenwassers zurückzuführen, denn in sauberem Brunnenwasser überlebte S. typhi länger als in schmutzigem Brunnenwasser. Dabei ist zu berücksichtigen, daß sicherlich auch methodische Unterschiede zu widersprüchlichen Aussagen führen können. Während z.B. S. typhimurium bei Laboruntersuchungen in einem simulierten Grundwassermilieu länger überlebte als S. typhi und E. coli (230 Tage gegenüber 8 bis 23 Tagen ; MERKLI, 1974), zeigen in situ Untersuchungen im Grundwasser mit der Membranfilterkammer-Methode, daß S. typhimurium innerhalb von 6 Tagen eliminiert werden kann (McFETERS et al., 1974).

Die Ergebnisse eigener Untersuchungen über die Überlebensdauer von E. coli, S. typhimurium und Str. faecalis sind, soweit überhaupt ein Vergleich zulässig erscheint, größenordnungsgemäß ähnlich wie die Angaben von MERKLI, (1974); KESWICK et al. (1982); BITTON et al. (1983) und DUTKA & KWAN, (1983). Auch diese Autoren haben eine lange Überlebenszeit von S. typhimurium, E. coli und Str. faecalis festgestellt. (S. typhimurium 99,9 %-ige Reduktion in 250 - 83 Tagen, E. coli und Str. faecalis 99,9 %-ige Reduktion in 90 - 30 Tagen bzw. 60 - 20 Tagen).

Bei Versuchen mit Trinkwasser konnten WEBER et al. (1982) beobachten, daß bei +4⁰ C Y. enterocolitica., E. coli, Enterokokken und Ps. aeruginosa über die Versuchsdauer von 300 Tagen eine gute Überlebensfähigkeit aufwiesen und noch in der Größenordnung von über 10⁴ KBE/ml vorhanden waren.

Durch die eigenen Untersuchungen konnte diese Beobachtung für Y. enterocolitica, Ps. aeruginosa und Str. faecalis bestätigt werden. Die Bakterien waren bis zum 300. Versuchstag im Grundwasser bei $+10^{\circ}\text{C}$ in der Größenordnung von $10^1 - 10^3/\text{ml}$ nachweisbar.

Über die Überlebensdauer von Staph. aureus unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen liegt keine Literaturangabe vor. Aufgrund der Ergebnisse der eigenen Untersuchungen ist sie sehr gering.

Für B. cereus, B. megaterium und Cl. perfringens kann eine längere Überlebensfähigkeit unter ungünstigen Nährstoffbedingungen vorausgesetzt werden, da diese Mikroorganismen Endosporen bilden können. Dies wurde durch die eigenen Untersuchungen für B. cereus und Cl. perfringens bestätigt. Dabei führte die Zugabe von Nährstoffen bei B. cereus eine schnellere Versporung herbei. Überraschenderweise war jedoch B. megaterium (vgl. Abb. 9a, S. 77) unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen nicht imstande, Sporen zu bilden, und die Kultur starb ab. Die Vermutung liegt nahe, daß bei dem untersuchten B. megaterium-Stamm die Sporulation temperaturabhängig war.

Daten über die Überlebensfähigkeit von Aktinomyceten unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen liegen in der Literatur noch nicht vor. Unsere Ergebnisse bestätigen mit einer Überlebensdauer von mindestens 300 Tagen jedoch die Annahme, daß diese Mikroorganismen nicht nur in der sonstigen Umwelt länger persistieren (DOTT et al. 1981), sondern auch im Grundwasser über längere Zeit überleben können. Auch Aspergillus niger überlebte mindestens 300 Tage im Grundwasser.

Unter die wichtigen ökologischen Faktoren, die das Absterben von Mikroorganismen beeinflussen, gehören verschiedene physikalische Größen, insbesondere Temperatur, sowie biologische und chemische Einflüsse. Die einzelnen Faktoren wirken selten isoliert. Sie überdecken und ergänzen sich vielmehr oder heben sich gegenseitig auf. Hierbei scheinen die biologischen Faktoren an der ersten Stelle zu stehen, die jedoch ihrerseits meistens von physikalischen und chemischen Faktoren beeinflusst werden. MATTHEß und PEKDEGER (1981) berichteten, daß in sterilen oder mikrobiell nur gering aktiven Wässern, Viren und besonders Bakterien bei höheren Temperaturen (37°C) und in Anwesenheit von höheren Gehalten an organischen Stoffen sowie günstigen pH-Werten ($\text{pH} \sim 7$) und niedrigeren Sauerstoffkonzentration längere Zeit persistieren. Dagegen verkürzt sich ihre Persistenzzeit bei sonst gleichen physikalischen und chemischen Bedingungen in verschmutzten und biologisch aktiven Wässern, weil unter diesen Bedingungen autochthone Bakterien aktiviert werden, die die konkurrierenden pathogenen Mikroorganismen schädigen.

Insgesamt gesehen deuten unsere Ergebnisse an, daß die von KNORR (1937, 1951) vertretene Ansicht über ein hinreichendes Absterben pathogener Mikroorganismen innerhalb von 50 Tagen unter den Bedingungen eines Grundwasserleiters nicht zutrifft.

5.2 Adsorptionsverhalten der Testkeime gegenüber drei verschiedenen Sandfraktionen.

Den Literaturangaben (SCHMIDT, 1980; MATTHEß und PEKDEGER, 1982) über das Reinigungsvermögen des Untergrundes ist zu entnehmen, daß nicht allein das Absterben die Elimination der Bakterien und Viren aus dem Grundwasser herbeiführt. Vielmehr kommen auch andere Prozesse physikalischer und physikalisch-chemischer Natur hinzu, die Adsorptions- und Transportvorgänge einschließen. Bakterien und andere Mikro-

organismen sind als partikuläre Substanzen der Adsorption an Oberflächen unterworfen. Ihre Adsorption an Feststoffe ist - neben dem empirisch messbare Kollisionswirksamkeitsfaktor (α_f) (STUMM und O'MELIA, 1971) - ein wichtiger Faktor, der ihr Transportverhalten weitgehend bestimmt (ROMERO, 1970).

In den hier zu besprechenden Untersuchungen mit E. coli, S. typhimurium, Ps. aeruginosa, und Str. faecalis wurde das Vorkommen einer Adsorption unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen bestätigt. Ihr Ausmaß hängt sowohl von der Art der Mikroorganismen als auch von der Struktur der Adsorbenten ab. Es wurde festgestellt, daß Str. faecalis am stärksten adsorbiert wurde (Abb. 17, S. 83) und S. typhimurium sowie E. coli am wenigsten zur Adsorption neigten (Abb. 14 u. 15, S. 82). Das Adsorptionsverhalten von Ps. aeruginosa nimmt eine mittlere Stellung ein (Abb. 16, S. 83). Dabei zeigten die vier untersuchten Mikroorganismen Unterschiede im Adsorptionsverhalten gegenüber den drei Sandfraktionen. Während bei Str. faecalis kaum Unterschiede zwischen den drei Sandfraktionen zu verzeichnen waren, adsorbierten E. coli und S. typhimurium weniger gut an Grobsand als an die beiden anderen Sandfraktionen. Ps. aeruginosa verhielt sich genau umgekehrt. Theoretisch betrachtet, sollte Feinsand ein bessere Adsorbens sein, da er eine größere Oberfläche zur Verfügung hat (DANIELS, 1972). Es ist in diesen Zusammenhang möglicherweise von Bedeutung, daß E. coli, S. typhimurium und Ps. aeruginosa im Gegensatz zu Str. faecalis Geißeln tragen und demzufolge spezifische Ablösekräfte wirksam werden. Sie werden möglicherweise zusätzlich beeinflusst von der Struktur des Sediments.

Die Adsorption von Mikroorganismen an mineralische Kornoberflächen ist als ein sehr komplex Vorgang, an welchem Bindungskräfte verschiedener Art beteiligt sind, zu betrachten. Es wird in der Literatur berichtet, daß Mikrobenzellen als negativ

geladene hydrophile kolloidale Partikel betrachtet werden können (MERKLI, 1974; WUHRMANN, 1980), die mit Sandkörnern in Wechselwirkung treten. Dabei können Oberflächenreaktionen im molekularen Bereich eine Rolle spielen, weil die Reaktivität sich auf Makromoleküle erstreckt, welche die diffuse Grenzfläche zwischen einer Zelle und dem Außenmedium bilden. An Hand eigener Ergebnisse, nach denen die absolute Zahl von Keimen relativ gering ist, welche pro Gramm Sand festgehalten wird, ist auf eine kleine Flächenbelegung des Absorbens zu schließen. Dies führt zur Schlußfolgerung, daß die Adhäsion der mit den Kornoberflächen kollidierenden Keime offensichtlich gering war.

4.3 S C H L U ß F O L G E R U N G E N

Auf Grund unserer Ergebnisse stellte sich die Frage, in wie weit bei der Ausweisung der Grundwasser - Schutzzone II aus mikrobiologischer Sicht die von KNORR (1937, 1951) geforderte Verweildauer von 50 Tagen ausreicht. Es hat sich gezeigt, daß unter den Bedingungen dieses Versuchs von fakultativ pathogenen Mikroorganismen nur Staph. aureus innerhalb dieser Zeit abstarb, während für andere Arten dieses Zeitlimit als ungenügend erscheint. So konnte beobachtet werden, daß E. coli, S. typhimurium, Ps. aeruginosa, Y. enterocolitica, Str. faecalis, B. cereus und Cl. perfringens mehr als 100 Tage unter grundwasserleiterähnlichen Bedingungen überleben konnten. Das gleiche galt auch für die untersuchten Aktinomyzeten und Pilze. Die Untersuchungen haben zwar auch gezeigt, daß ein Adsorptionsprozess stattfindet, jedoch muß zweifelsohne auch ein Desorptionseffekt berücksichtigt werden. Der Transport überlebensfähiger Mikroorganismen hängt z.T. davon ab, ob und wie schnell die adsorbierten Keime unter gegebenen Bedingungen desorbiert werden können.

Es muß im weiteren kritisch geprüft werden, in wieweit unsere Modelluntersuchungen - die natürlich nur einige Teilaspekte der vielfältigen und komplexen Bedingungen eines Grundwasserleiters simulieren konnten - auf natürliche Verhältnisse übertragen werden können. Einer Verifizierung der in den Laborversuchen gewonnenen Erkenntnisse durch Feldversuche wäre daher große Bedeutung beizumessen.

Ohne eine weitere Prüfung unter spezifischen Bedingungen eines Grundwasserleiters ist es deshalb nicht leicht zu entscheiden, ob eine 50 tägigen Verweilzeit im Sinne von KNORR (1937, 1951) einen ausreichenden Schutz vor Verbreitung pathogener Mikroorganismen durch Grundwasser bietet. Jedoch muß auf Grund der Ergebnisse der hier dargestellten Modelluntersuchungen diese Annahme eher verneint werden.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

In Modellversuchen wurden die auf das Verhalten einiger Indikatorbakterien gestützte These von KNORR (1937, 1951), KNORR und MUSELMAN (1940) überprüft, die besagt, daß ins Grundwasser eingeschleppte Mikroorganismen dort innerhalb von 50 Tagen hinreichend eliminiert werden. Mit den folgenden Teilproblemkreisen, wurden die Überlebensfähigkeit pathogener und potentielle pathogener Mikroorganismen untersucht:

- Überlebensdauer suspendierter Keime im Grundwasser (GW).
- Überlebensdauer im GW, das durch NO_3 -N und C in Form von Huminsäure mit Nährstoff angereichert war.
- Überlebensdauer im GW in Gegenwart natürlicher mineralischer Substrate (Sande) aus einem Grundwasserleiter.
- Überlebensdauer im GW angereichert mit C und N und in Gegenwart natürlicher mineralischer Substrate.

Als Testorganismen dienten: jeweils ein Stamm von Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Bacillus cereus, Bacillus megaterium, Clostridium perfringens, Aspergillus niger, Nocardia alba, und Streptomyces griseus.

Als natürliches mineralisches Substrat wurden saale-eiszeitliche Schmelzwassersande aus dem Grundwasserleiter in Seegeberger Forst verwandt. Das Suspensionsmittel war membranfiltriertes Grundwasser aus einem pleistozänen, glazifluvialen Grundwasserleiter in Berlin(West).

Die Gültigkeit der These von KNORR (1937, 1951), KNORR und MUSELMAN (1940) hat sich in Laborversuchen für Staph. aureus und B. megaterium bestätigt. Bei allen anderen Mikroorganismen wurde die Zahl vermehrungsfähiger Zellen durch Aufenthalt im

Grundwassermilieu zwar mehr oder weniger stark reduziert, jedoch waren diese Bakterien auch noch über 100 Tage hinaus in einer relativ hohen Konzentration im Grundwasser vermehrungsfähig nachweisbar. Die Anwesenheit der Sedimente (Sand) und von Nitrat und Huminsäure als Stickstoff- bzw. Kohlenstoffquelle hatte keinen einheitlichen Einfluß auf die Überlebensrate der Bakterien, indessen ergab sich in keinem Falle eine deutliche Abnahme der Keimzahl in Gegenwart der Sedimente oder eine deutliche Verbesserung der Überlebensfähigkeit durch die C und N Zugabe.

Als wichtigstes Ergebnis aus den Untersuchungen im Aquifermilieu (Batch-Versuche) zum Adsorptionsverhalten ausgewählter Mikroorganismen sei erwähnt, daß der relative Anteil von freien zu haftenden Zellen mehr von der Mikroorganismen und weniger stark von der verwendeten Sandfraktion abhängig war.

6. S U M M A R Y

The elimination of pathogenic and potential pathogenic microorganisms under simulated ground water aquifer conditions was investigated.

The survival of each of the following strains of Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Bacillus cereus, Bacillus megaterium, Clostridium perfringens, Aspergillus niger, Nocardia alba and Streptomyces griseus was studied in:

- a. ground water alone;
- b. ground water enriched with a Nitrate and Humic acid as sources of Nitrogen and Carbon respectively;
- c. ground water in the presence of a natural mineral substrate (sand);
- d. ground water enriched with a Nitrate and Humic acid in the presence of a natural mineral substrate (sand).

The ground water used in the experiments, kindly supplied by Berliner Water Works, was of known chemical composition. The source of natural minerals was sand taken from a good characterised ground water aquifer in Seegeberger forest, 40.km. north of Hamburg.

The 50-days die-off theory of KNORR (1937, 1951) for indicator and pathogenic microorganisms introduced into ground water aquifer was confirmed for Staph. aureus and B. megaterium. With differences in reduction rates, all other tested microorganisms survived up to 100 days and longer in relatively high numbers in ground water with and without the addition of sand, a Nitrate and Humic acid. The addition of

sand, a Nitrate and Humic acid to ground water did not have any significant influence on the survival rates of the tested microorganisms.

Adsorption onto sand particles of four representative strains of the tested microorganisms was also investigated. The results showed that adsorption of the tested microorganisms was more dependent on the bacteria strains and less so on the type of sand used.

The results of the experiments are evaluated in the light of dimensioning ground water protection zones.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ALLEN, M.J. (1979)

Microbiology of ground water.

J. Water Poll. Control Fed. 51, 1743 - 1746

ALLEN, M.J. u. S.M. MORRISON (1973)

Bacterial movement through fractured Bedrocks.

Groundwater 11, 6 - 10

ALLEN, M.J. u. E.E. GELDREICH (1975)

Bacteriological criteria of ground water quality.

Groundwater 13, 45 - 52

ALTHAUS, H., K.D. JUNG, G. MATTHEB u. A. PEKDEGER (1982)

Lebensdauer von Bakterien und Viren in Grundwasserleitern.

Umweltbundesamt, Materialien 1/82 190 S.

Erich Schmidt Verlag - Berlin

BAARS, J.K. (1961)

Experiences in the Netherlands with contamination of ground waters. in "Proc. Ground Water Contamination Symposium" Ohio 1961, S. 56 - 63

BERG, G., P.V. SCAPINO u. D. BERMAN (1967)

Survival of bacteria and viruses in natural waters. in

"Proc. Quality Standards f. Nat. Waters Symposium"

Ann. Arbo. Mich., S. 231 - 236

BISSON, J. W. u. V.J. CABELLI (1980)

Clostridium perfringens as a water pollution indicator.

J. Water Poll. Control Fed. 52, 241 - 248

BITTON, G. (1975)

Adsorption of viruses onto surfaces in soil and water.
Water Res. 9, 473 - 480

BITTON, G., S.R. FARRAH, R.H. RUSKIN, J. BUTMER u.
Y.J. CHOU (1983)

Survival of pathogenic and indicator organisms in ground
water.

Groundwater 21, 405 - 410

BÖHM, A., M. DREHER, H. GRAN, R. HIRMER, M. LEHRNBECHER,
H. METZ, P. MORITZ u. H.W. SCHMIDT (1978)

Über die Ruhrepidemie (Shigella sonnie) in Ismaning.
Öff. Gesundh.- Wes. 40, 643 - 652

BORNEF, J. u. F. SELENKA (1971)

Das Verhalten von Bakterien im Untergrund.

Nachr. Deutsch. Geol. Ges. 4, 85 - 86

BOUWER, H. (1974)

Renovating municipal waste water by high rate infiltra-
tion for ground water recharge.

J. Amer. Water Works Assoc. 66, 159 - 162

BROWN, K.W., H.W. WOLF, K.C. DONNELLY u. J.F. SLOWEY (1979)

The movement of faecal coliforms and coliphages below
septic lines.

J. Environ. Quality 8, 121 - 125

BUTLER, R.G., G.T. ORLOB u. P.H. MCGAUTHEY (1954)

Underground movement of bacterial and chemical pollutants.

J. Amer. Water Works Assoc. 46, 97 - 111

- CORDES, L.G., G.W. GORMAN, H.W. WILKINSON, B.J. FIKES u.
A.W. FRASER (1979)
Atypical Legionella-like organismus: fastidious water
associated with bacteria pathogenic for man.
The Lancet II, 927 - 930
- CRAUN, G.F. (1974)
Waterborne outbreaks - Literature Review.
J. Water Poll. Control Fed. 46, 1383 - 1395
- CRAUN, G.F. (1978)
Disease outbreaks caused by drinking water.
J. Water Poll. Control Fed. 50, 1362 - 1374
- CRAUN, G.F. (1979)
Waterborne diseases - A state report emphasizing out-
breaks in groundwater systems.
Groundwater 17, 183 - 191
- CRAWFORD, R.P., J.M. HEINEMANN, W.F. McCULLOCH u.
S.L. DIESCH (1971)
Human infections associated with waterborne Leptospire,
survival studies on serotype pomona.
J. Amer. Vet. Med. Assoc. 159, 1477 - 1484
- DANIELS, S.L. (1972)
The adsorption of microorganisms onto solid surfaces:
A Review.
Developm. Industr. Microbiol. 13, 211 - 253
- DEINEMA, M.H. u. L.P. ZUVENHUIZEN (1971)
Formation of cellulose fibrils by gram-negative bacteria
and their role in bacterial flocculation.
Archiv. f. Mikrobiol. 78, 42 - 57

DOTT, W. u. D. WASCHKO-DRANSMANN (1981)

Vorkommen und Bedeutung von Actinomycetales in Trinkwasser.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 173, 217 - 232

DUKE, H.R., D.E. SMIKA u. D.F. HEERMAN (1978)

Ground water contamination by fertilizers - Nitrogen.
J. Irrig. Drainage Div. 104, 283 - 291

DUTKA, B.J. u. K.K. KWAN (1983)

Environmental studies on enteric bacteria longevity in
membrane-filter-chambers.
J. Amer. Water Works Assoc. 75, 380 - 382

FILIP, Z. (1975)

Wechselbeziehung zwischen Mikroorganismen und Tonmineralien und ihre Auswirkung auf die Bodendynamik.
Habilitationsschrift, Universität Gießen

FILIP, Z. (1979)

Wechselwirkung von Mikroorganismen und Tonmineralien -
eine Übersicht.
Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 42, 375 - 386

FLAMM, H. u. G. WEBER (1978)

Trinkwasserbeurteilung aus der Sicht des Hygienikers.
Wiener Mitt. Wasser, Abwasser & Gewässer 27(I), 1 - 6

FLETCHER, M. u. G.D. FLOODGATE (1973)

An electron-microscopic demonstration of an acid polysaccharide involved in the adhesion of a marine bacterium to solid surfaces.
J. General Microbiol. 74, 325 - 334

FLIERMANS, C.B., W.B. CHERRY, L.H. ORRISON u.

L. THACKER (1979)

Isolation of Legionella pneumophila from non-epidemic related aquatic habitats.

Appl. Environ. Microbiol. 37, 1239 - 1242

FLIERMANS, C.B., W.B. CHERRY, L.H. ORRISON, S.J. SMITH,

D.L. TISON u. D.H. POPE (1981)

Ecological distribution of Legionella pneumophila.

Appl. Environ. Microbiol. 41, 9 - 16

FRASER, D.W. u. J.E. McDADE (1979)

Legionellosis.

Scientific American 241 (4), 82 - 96

FRIEDMAN, B.A., P.R. DUGAN, R.M. PFISTER u. C.C. REMSEN (1969)

Structure of exocellular polymers and their relationship to bacterial flocculation.

J. Bacteriol. 98, 1328 - 1334

GÄRTNER, A. (1915)

Die Hygiene des Wassers. Gesundheitliche Bewertung, Schutz Verbesserung und Untersuchung der Wässer.

Handbuch f. Ingenieure, Wasserwerkeleiter, Chemiker, Bakteriologen u. Medizinalbeamte S. 17 - 27

GELDREICH, E.E. (1977)

Turbidity of drinking water and its relation to bacteriological standards.

Ann. Environ. Lab. Seminar, Springfield III.

GELDREICH, E.E. (1979)

Microbiology of water - A literature review.

J. Water Poll. Control Fed. 51, 1721 - 1742

GELDREICH, E.E. (1981)

Microbiology of water.

J. Water Poll. Control Fed. 53, 1083 - 1098

GERBA, C.P., C. WALLIS u. J.L. MELNICK (1975)

Fate of waste water bacteria and viruses.

J. Irrig. Drainage Div. 101, 157 - 174

GERBA, C.P., u. J.S. McLEOD (1976)

Effect of sediments on the survival of Escherichia coli in marine waters.

J. Appl. Microbiol. u. Biotechnol. 32, 114 - 120

GERBA, C.P. u. S.M. GOYAL (1978)

Health considerations of adsorptions of selected Enteroviruses to soils.

in "State of knowledge in Sand treatment of waste water"

U.S. Govt. Print. Off. Vol. 2, 225 - 232

GILLHAM, R.W. u. L.R. WEBER (1968)

Ground water contamination.

J. Water Poll. Control Fed. 106, 54 - 57

GLATHE, H., K.H. KNOLL u. A.A.M. MAKAWI (1963 a)

Lebensfähigkeit von Escherichia coli in verschiedenen Bodenarten.

Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd. 100, 142 - 150

GLATHE, H., K.H. KNOLL u. A.A.M. MAKAWI (1963 b)

Das Verhalten von Salmonellen in verschiedenen Bodenarten.

Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd. 100, 224 - 233

GRÄF, W. u. G. PELKA (1979)

Die Indikatorfunktion der Wassermyxobakterien bei der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung.

Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 169, 225 - 239

HARVEY, S., J.R. GREENWOOD, M.J. PICKET u. R.A. MAH (1976)

Recovery of Yersinia enterocolitica from streams and lakes of California.

Appl. Environ. Microbiol. 32, 352 - 354

HENDRICKS, D.W. (1974)

Sorption of heterotrophic and enteric bacteria to glass surfaces in the continuous culture of river water.

J. Appl. Microbiol. u. Biotechnol. 28, 572 - 578

HENDRICKS, D.W., F.J. POST u. D.R. KHARNAR (1979)

Adsorption of bacteria on soils: Experiments thermodynamic rationale and application.

Water, Air and Soil Poll. 12, 219 - 232

HIGHSMITH, A.K., J.C. FEELEY, P. SKALIY, J.G. WELLS u.

B.T. WOOD (1977)

Isolation of Yersinia enterocolitica from well water and growth in distilled water.

Appl. Environ. Microbiol. 34, 745 - 750

HORNICK, R.B., S.I. MUSIC, R. WENZEL, R. CASH, J.P. LIBONATI,

M.J. SNYDER u. T.E. WOODWARD (1971)

The Broad Street pump revisited - response of volunteers to ingested Cholera vibrios.

Bull. New York Acad. Med. 47, 1181 - 1191

HVID, N. (1955)

Microbiological and hygienic studies on underground water in Sjaelland. Diss., Dänisch Sc. Press, S 180

IWASAKI, T. (1937)

Some notes on sand filtration.

J. Amer. Water Works Assoc. 29, 1551 - 1558

KELLER, G. (1972)

Grundwasserepidemien als Maßstab für den Grundwasserschutzbedarf.

Z. Deutsch. Geol. Ges. 123, 39 - 44

KESWICK, B.H., C.P. GERBA u. S.L. SECOR (1982)

Comperative survival of bacteria and viruses in ground water.

ASM Meeting, Atlanta, Ga, Abstr. Q 8.

KISSKALT, H. u. M. KNORR (1930)

Die Gefährdung von Diluvialquellen und ihre Untersuchung mit Uranin und Kochsalz.

Zbl. Bakt. Hyg. Abt. Orig. B 103, 349 - 364

KORKMAN, J. (1971)

Survival and leaching of faecal Streptococci under field conditions.

Acta Agric. 123, 186 - 192

KNORR, M. (1929)

Typhus und Trinkwasser, eine epidemiologische Studie über Pforzheimer Typhusepidemie 1929.

Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 102, 1 - 36

KNORR, M. (1937)

Die Schutzzzonefrage in der Trinkwasserhygiene.

Gas-Wasserfach 80, 330 - 334

KNORR, M. (1951)

Zur hygienischen Beurteilung der Ergänzung und des Schutzes großer Grundwasservorkommen.

Gas-Wasserfach 92, 104 - 110

KNORR, M. u. R. MUSELMANN (1940)

Infiltration und Filtration in ihrer Bedeutung für die Schutzzonenfrage.

Archiv. f. Hyg. u. Bakt. 23, 343 - 346

KUDRYAVTSEVA, B.M. (1970)

Überleben und Ausbreitung von Bakterien der Coligruppe in Grundwasser.

Gigiema I Sanitariya 35, 14 - 19

LAMKA, K.G., M.W. LeCHEVALLIER u. R.J. SEIDLER (1980)

Bacterial contamination of drinking water supplies in a modern rural neighborhood.

Appl. Environ. Microbiol. 39, 734 - 738

LASSEN, J. (1972)

Yersinia enterocolitica in drinking water.

Scand. J. Infect. Dis. 4, 125 - 127

LeCHEVALLIER, M.W. u. R.J. SEIDLER (1980)

Staphylococcus aureus in rural drinking water.

Appl. Environ. Microbiol. 39, 739 - 742

MARSHALL, K.C. (1971)

Sorptive interactions between soil particles and micro-organisms.

Soil Biol. Biochem. 2, 409 - 445

MATTHEß, G. (1973)

Die Beschaffenheit des Grundwassers.

Verlag Gebr. Borntraegen, Berlin.

MATTHEB, G. (1980)

Untersuchungen der Lebensdauer von Bakterien und Viren im Grundwasser im Hinblick auf die Ausweisung von Schutzgebieten für die Grundwasseranlagen. Teil A: Hydrologische Untersuchungen.

Forschungsbericht d. Geol.-Paläontol. Inst. d. Universität Kiel, S. 78 - 88

MATTHEB, G. u. A. PEKDEGER (1981)

Concepts of survival and transport model of pathogenic bacteria and viruses.

Science Total Environ. 21, 149 - 159

McFETERS, G.A., G.K. BISSONETTE, J.E. JEZISKE, D.A. THOMSON u. D.A. STUART (1974)

Comperative survival of indicator bacteria and enteric pathogens in well water.

J. Appl. Microbiol. u. Biotechnol. 27, 823 - 829

MERKLI, B. (1974)

Untersuchung über Mechanismen und Kinetik der Elimination von Bakterien und Viren im Grundwasser.

Naturw. Diss. ETH 5420, Zürich, S. 89

MOSLEY, W.H. (1970)

Epidemiology of cholera - principles of control.

WHO - Public Health Papers 40, 23 - 27

MÜLLER, H.E. (1979)

Über das Vorkommen von Salmonellen in Trinkwasser.

Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. B 169, 551 - 559

MÜLLER, G. u. B. HICKISCH (1970)

Die Adsorption von Bodenbakterien an Substrate mit besonderer Berücksichtigung sekundär Tonminerale und Ionenaustauscher auf Kunstharzbasis. I. Mitteilung.

Zbl. Bakt. Hyg. II. Abt. 125, 333 - 362

ORADOVSKAJA, A.E. u. E.J. MOLOZAVJA (1979)

Prognose der mikrobiologischen Selbstreinigung des Grundwassers. in "Methods for Evaluation of ground water resources" Kongressbericht der Intern. Assoc. Hydrol. in Vilnius, USSR 1979, Vol XV (1), 288 - 290

ORLOB, G.T. (1956)

Viability of sewage bacteria in Sea water.
Sewage & Industr. Wastes 28, 2477 - 2484

PETZELT, K. (1975)

Güteveränderungen des Trinkwassers durch Wiederverkeimung
Zbl. Bakt. Orig. A 227, (1 - 4), 46 - 49

POLITI, B.D., D.W. FRASER, G.F. MALLISON, J.V. MOHAT,
G.K. MORRIS, C.M. PATTON, J.C. FEELEY, R.D. TELLE u.
J.V. BENNET (1979)

A major focus of Legionnaires' disease in Bloomington,
Indiana.
Ann. Intern. Med. 90, 578 - 591

POPOVIC, B. (1977)

Isolation and survival of pathogenic Leptospire in
water of the Resava river.
Veterinarski, Glasnik. Belgrad 31, 447 - 452

RENEAU, R. u. D. PETTRY (1975)

Movement of coliform bacteria from septic tank effluent
through selected coastal plain soils of Virginia.
J. Environ. Quality 4, 41 - 44

RICHTLINIEN FÜR TRINKWASSERSCHUTZGEBIETE (1975): DVGW Regelwerk, Technische Regel, Arbeitsblatt W 101, I. Teil:
Schutzgebiete für Grundwasser, 22 S. Eschborn

RITTER, B. (1979)

Einfluß der Grundwassertemperatur auf die Beschaffenheit
des Grundwassers.

Biologie - Kap. I 5.2, 1 - 38

ROBECK, G.G., A.R. BRYANT u. R.L. WOODWARD (1962)

Influence of ABS on coliform movement through water-
saturated sand soils.

J. Amer. Water Works Assoc. 54, 75 - 82

ROMERO, J.C. (1970)

The movement of bacteria and viruses through porous media.

Groundwater 8, 37 - 48

SCHAUB, S.A. u. C.A. SORBER (1977)

Virus and bacteria removal from waste water by rapid
infiltration through soil.

Appl. Environ. Microbiol. 30, 47 - 53

SCHEUERMANN, P.R., G. BOTTON, A.R. OVERMAN u.

G.E. GIFFORD (1979)

Transport of viruses through organic soils and sediments.

J. Irrig. Drainage Div. 105, 629 - 635

SCHIEHMANN, D.A., M.H. BRODSKY u. B.W. CIEBEN (1979)

Salmonella and bacterial indicators in ozonated and
Chlorine-dioxide disinfected effluent.

J. Water Poll. Control Fed. 50, 158 - 162

SCHMASSMANN, H. (1972)

Künstliche Grundwasseranreicherung.

Gas - Wasser - Abwasser 52, 125 - 141

SCHMIDT, K.H. (1980)

Grundwassererneuerung und Wassergewinnung.

Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. B 172, 134 - 155

SCHUBERT, R. u. P. SCHIEBER (1975)

Das Vorkommen von Pseudomonas aeruginosa im Grundwasser, Oberflächenwasser und in Wasserversorgungsleitungen in tropischen Gebieten.

gwf - Wasser/Abwasser 116, 413 - 415

SCHWEISFURTH, R. (1974)

Crenothrix polyspora Cohn as an indicator of organic pollution of ground water.

Proc. Soc. Ecology (Erlangen) I, 161 - 165

SCHWEISFURTH, R. (1979)

Problem der Trinkwasser - Mikrobiologie.

Forum Mikrobiol. 2 H1, 25

SEEBERGER, R.H. (1951)

Schwurgerichtsprozess über die Typhusepidemie 1948 in Neuötting, Oberbayern.

gwf - Wasser/Abwasser 92, 5 - 14

STUMM, W. u. C. O'MELIA (1971)

Chemische Vorgänge bei der Filtration.

Veröffent. d. Abt. u. Lehrstuhl f. Wasserchemie, München 5, 42 - 67

STUNDL, K. (1971)

Versuche über die Bodenfiltration zur Bemessung der Sicherheitsmaßnahmen für ein Grundwasserwerk.

Österr. Wasserwirt. 19, 20 - 26

TAGO, Y. u. K. AIDA (1977)

Exocellular mucopolysaccharide closely related to bacterial floc formation.

Appl. Environ. Microbiol. 34, 303 - 314

TEUBER, I. (1948)

Die Cholera in der Schweiz.

Med. Mikrobiol. & Immunol. 127, 166 - 184

TEZUKA, Y. (1967)

Magnesium ions as a factor governing bacterial flocculation.

J. Appl. Microbiol. u. Biotechnol. 15, 1256 - 1259

TLUCZEK, L. u. E. CARLSON (1975)

Persistence of faecal coliforms and Enterococci in ground water and on land after disposal of human waste.

Abstr. Annual Meeting Amer. Soc. Microbiol. 75, 185

VETRILE, L.A. (1972)

Experimental investigations for assesment of the method of artificial replenishment of underground water supply.

Gigiena I Sanitariya 37, 14 - 18

VIRARAGHAVAN, T. (1978)

Travel of microorganisms from a septic line.

Water, Air and Soil Poll. 9, 355 - 361

WALTHER, G. (1951)

Lehren des Neuöttinger Typhusprozess für die Organisation der Versorgungsbetriebe, insbesondere der Eigenbetriebe.

gwf - Wasser/Abwasser 92, 23 - 24

WEBER, G., H. REISINGER, M.F. KLENNER u. G. STANEK (1982)

Überlebensfähigkeit von Versinien in Trinkwasser.

Forum Städte - Hygiene 33, 242 - 244

WUHRMANN, K. (1977)

Chemische und biologische Beeinflussung der Grundwasserqualität.

Gas, Wasser & Abwasser 57, 633 - 641

WUHRMANN, K. (1980)

Mikrobiologische Aspekte der Gewinnung, Aufbereitung und
Verteilung von Trink- und Brauchwasser.

Swiss Food 2, 15 - 23

ZVYAGINITSEN, D.G., A.F. PERTSOVSKAYA, V.I. DUDA u.

D.I. NIKITIN (1969)

Electron microscopic study of the adsorption of micro-
organisms on soil and minerals.

Microbiol. - USSR 38, 937 -942

8. A B B I L D U N G E N

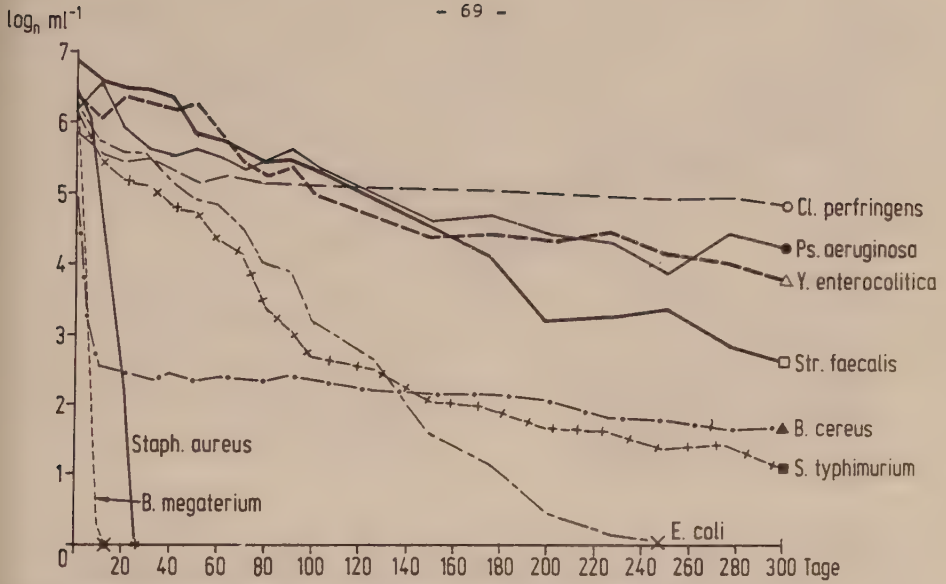


Abb. 1a Keimzahl im Grundwasser in Abhängigkeit von der Aufbewahrungszeit

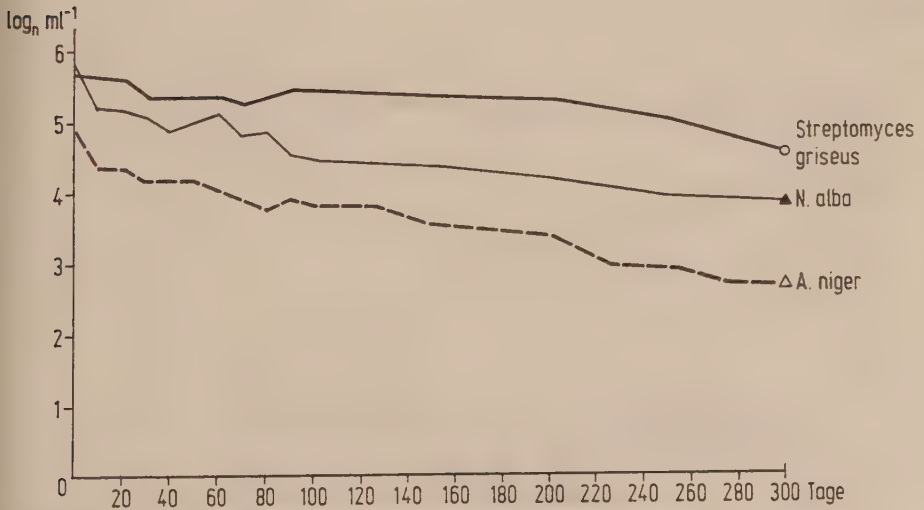


Abb. 1b Keimzahl im Grundwasser in Abhängigkeit von der Aufbewahrungszeit

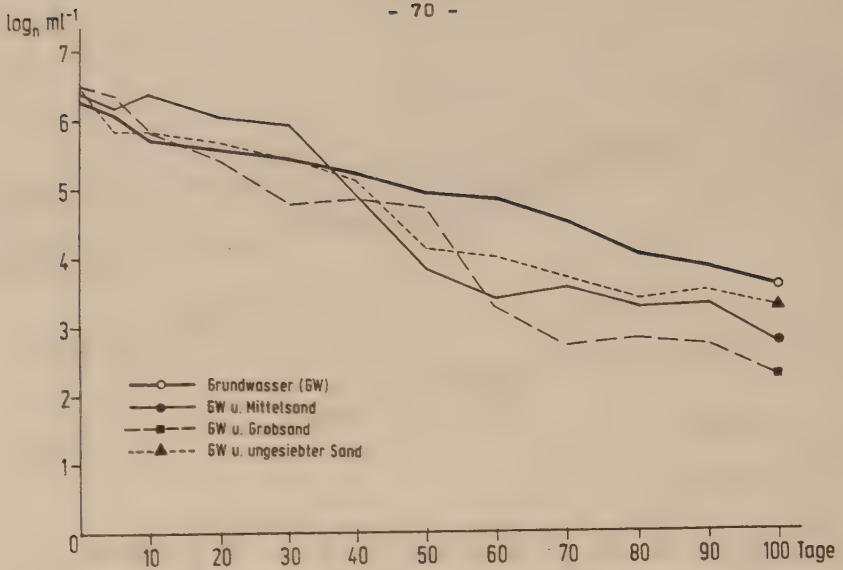


Abb. 2a Keimzahl von *E. coli* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

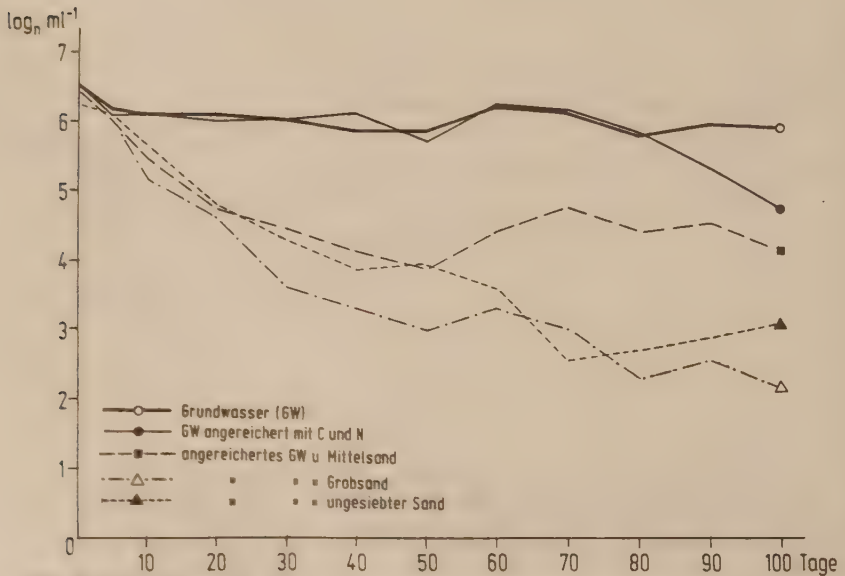


Abb. 2b Keimzahl von *E. coli* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

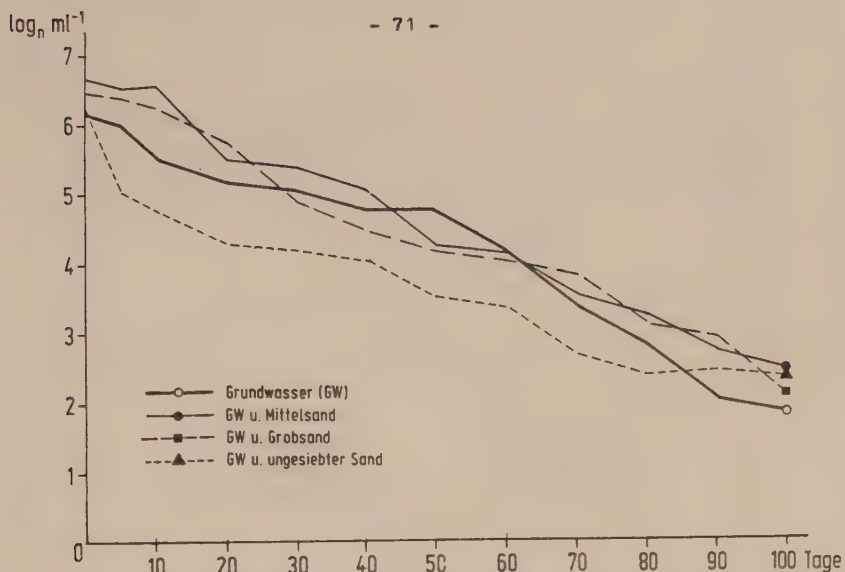


Abb. 3a Keimzahl von *S. typhimurium* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

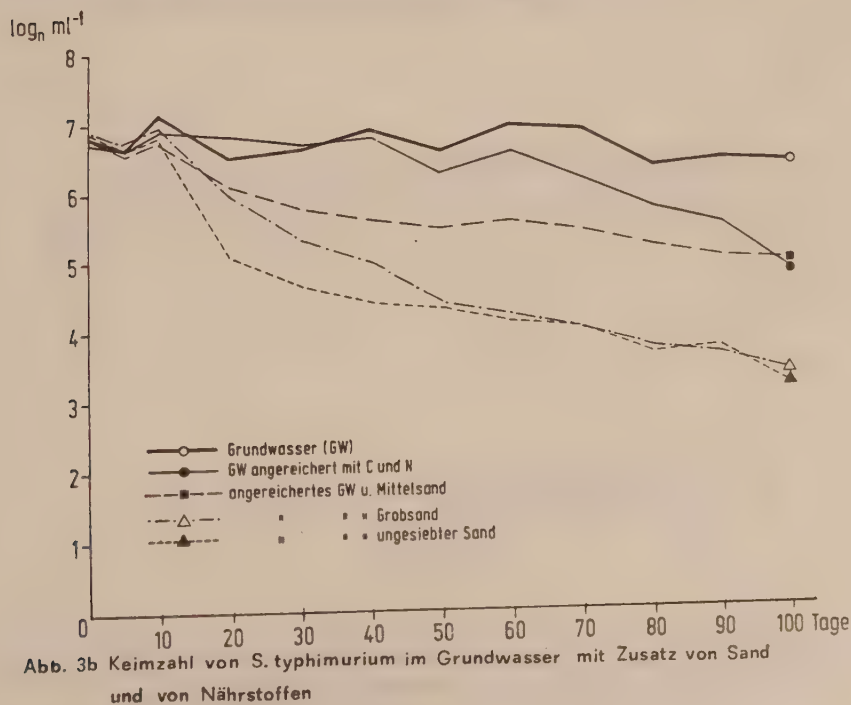


Abb. 3b Keimzahl von *S. typhimurium* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

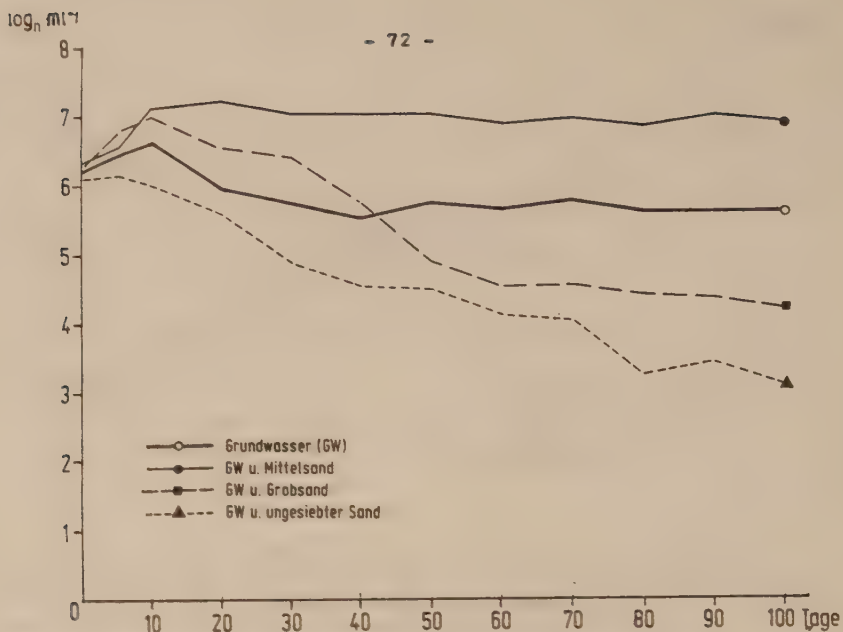


Abb. 4a Keimzahl von *Ps. aeruginosa* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

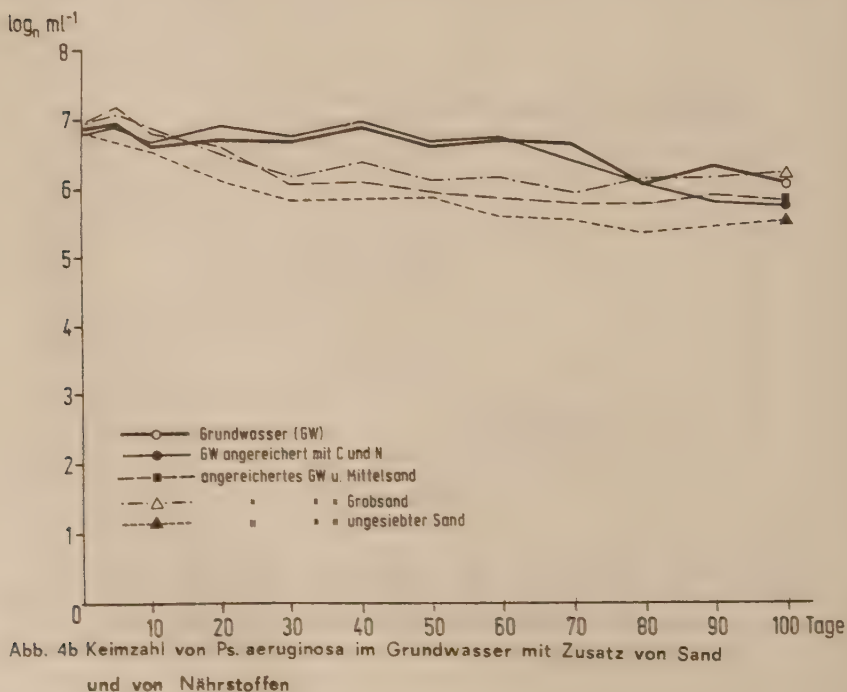


Abb. 4b Keimzahl von *Ps. aeruginosa* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

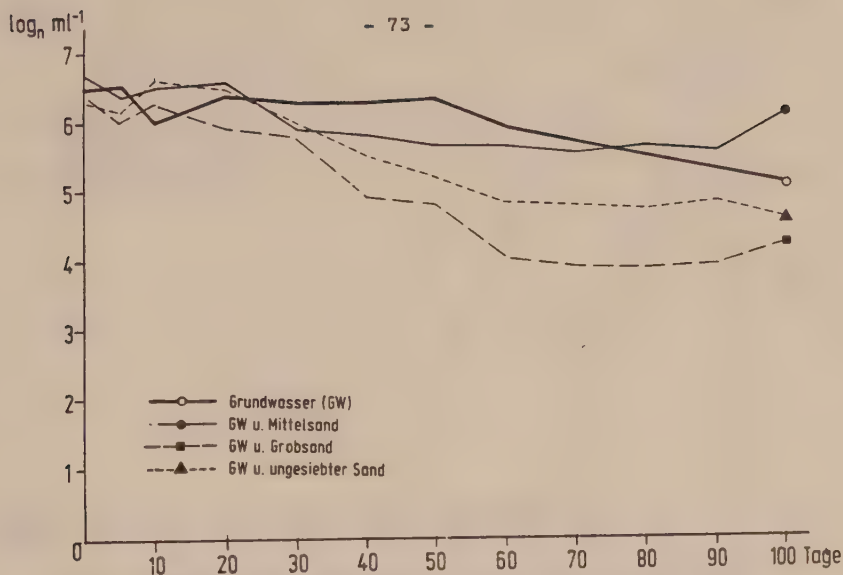


Abb. 5a Keimzahl von *Y. enterocolitica* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

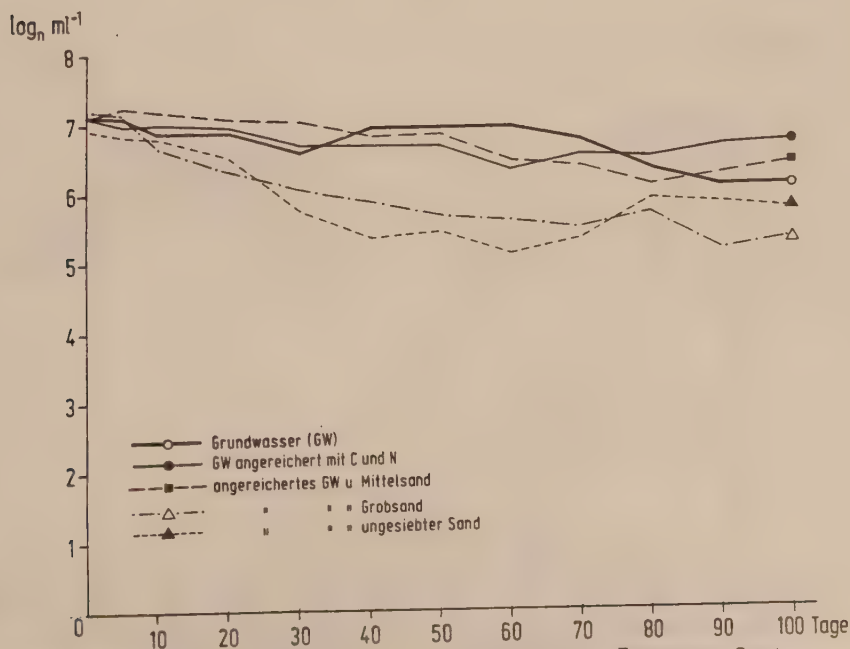


Abb. 5b Keimzahl von *Y. enterocolitica* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

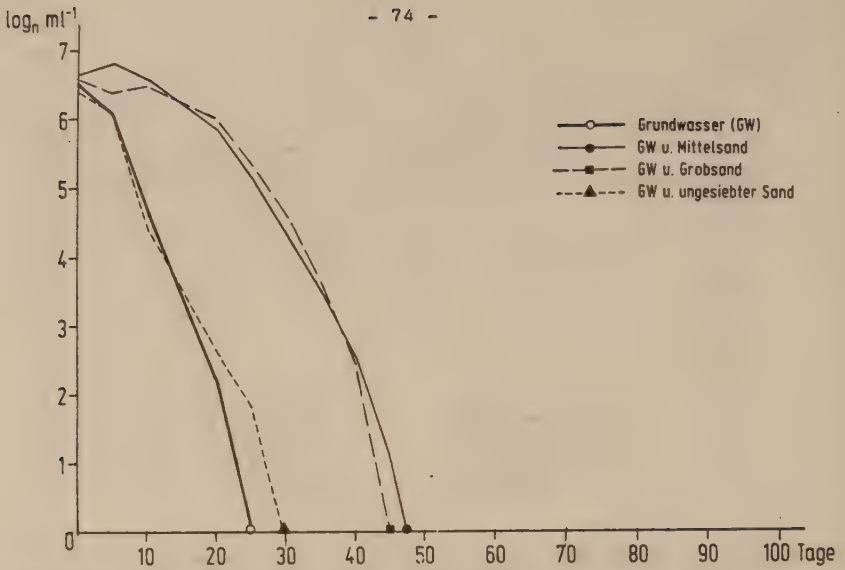


Abb. 6a Keimzahl von *Staph. aureus* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

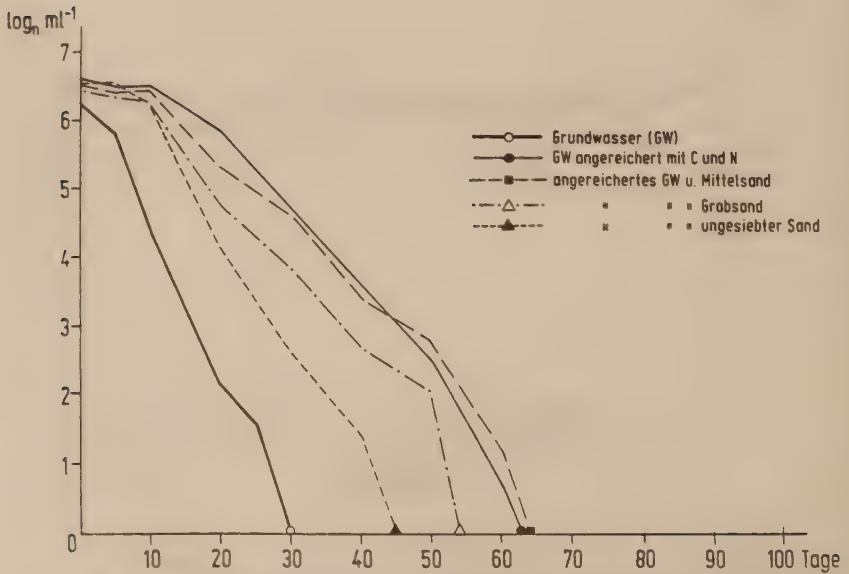


Abb. 6b Keimzahl von *Staph. aureus* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

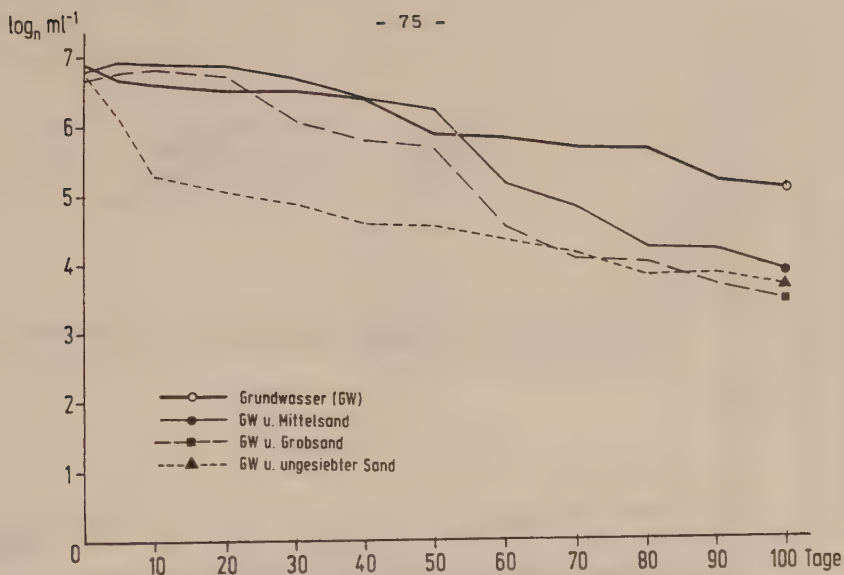


Abb. 7a Keimzahl von *Str. faecalis* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

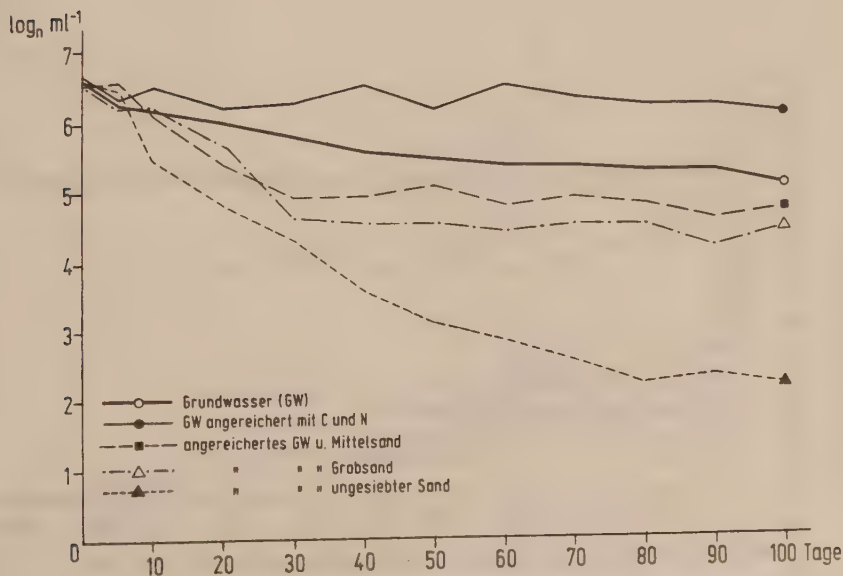


Abb. 7b Keimzahl von *Str. faecalis* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

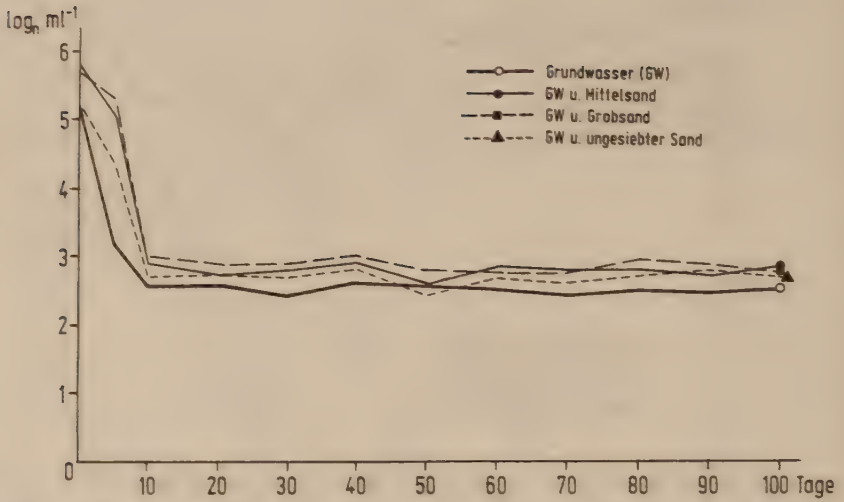


Abb. 8a Keimzahl von *B. cereus* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

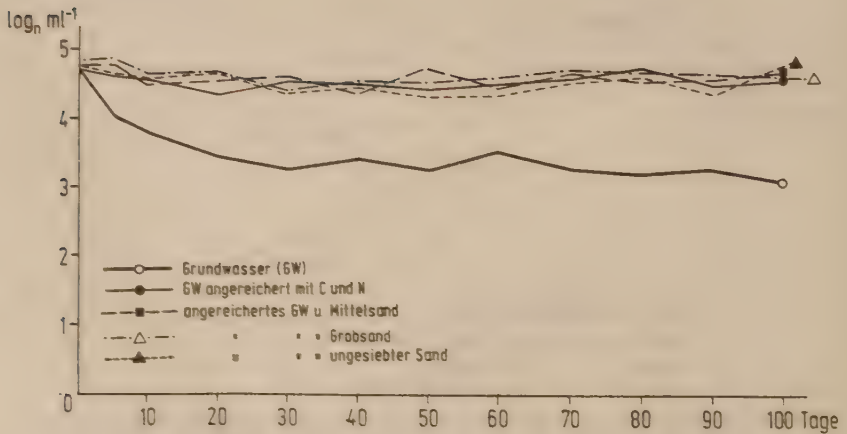


Abb. 8b Keimzahl von *B. cereus* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

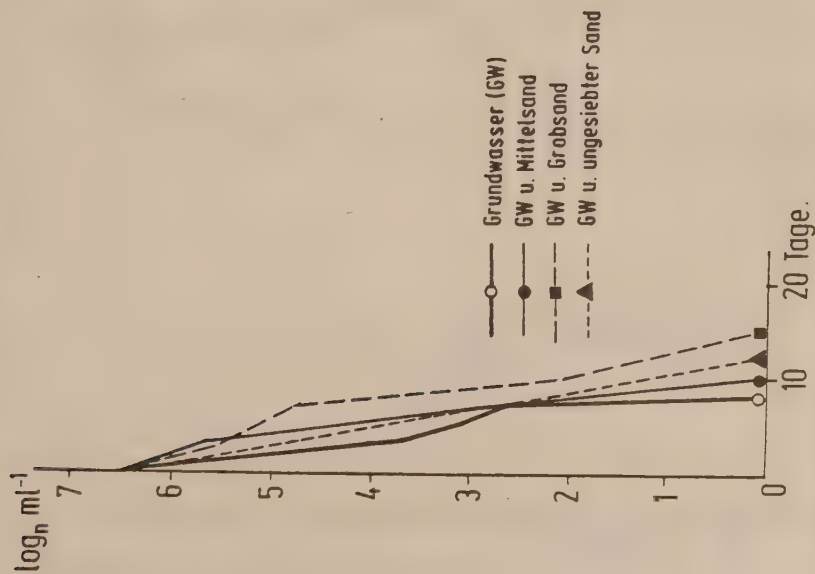


Abb. 9a Keimzahl von *B. megaterium* im GW mit Zusatz von Sand

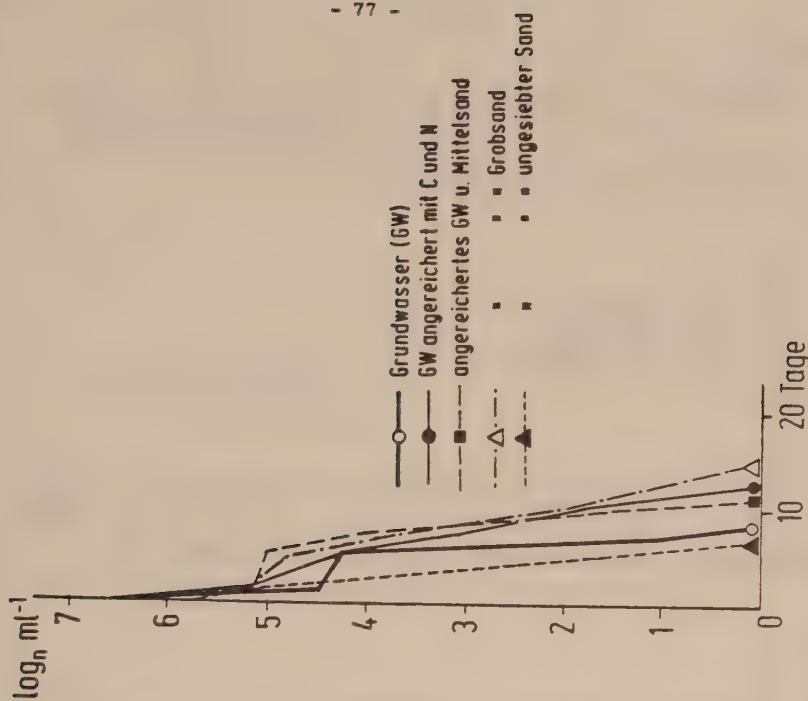


Abb. 9b Keimzahl von *B. megaterium* im GW mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

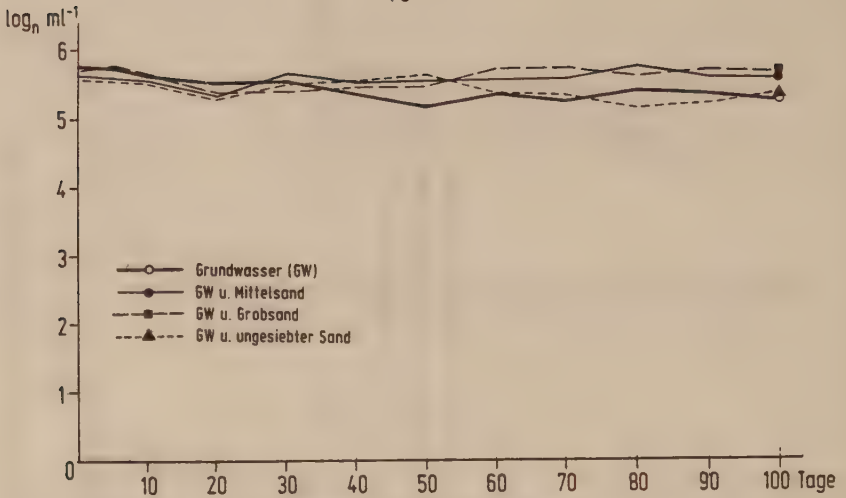


Abb. 10a Keimzahl von *Cl. perfringens* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

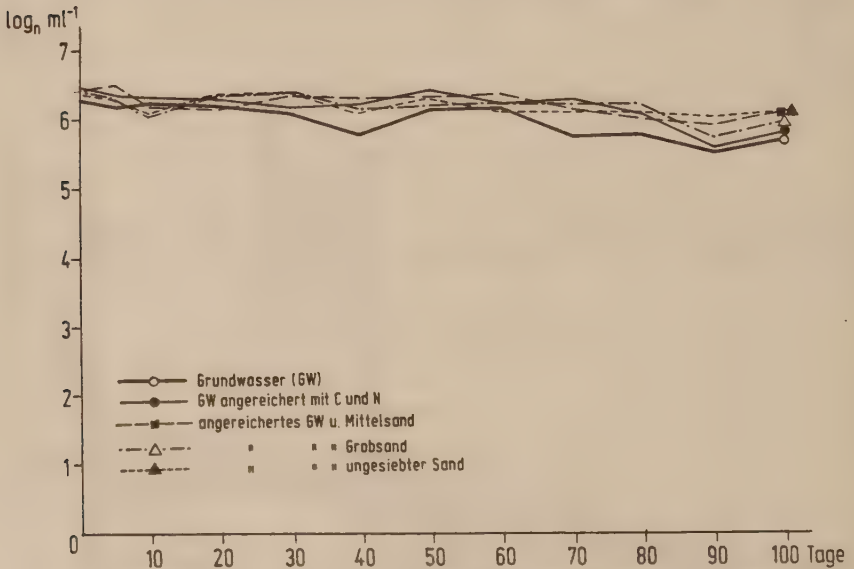
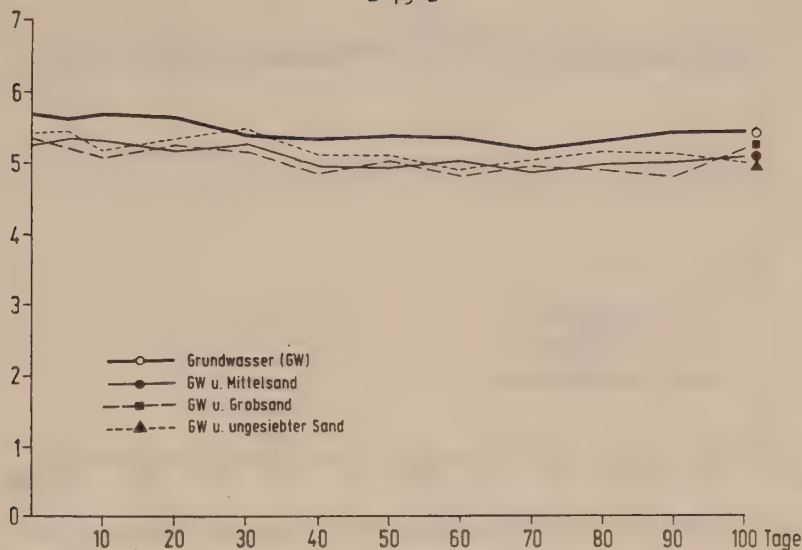
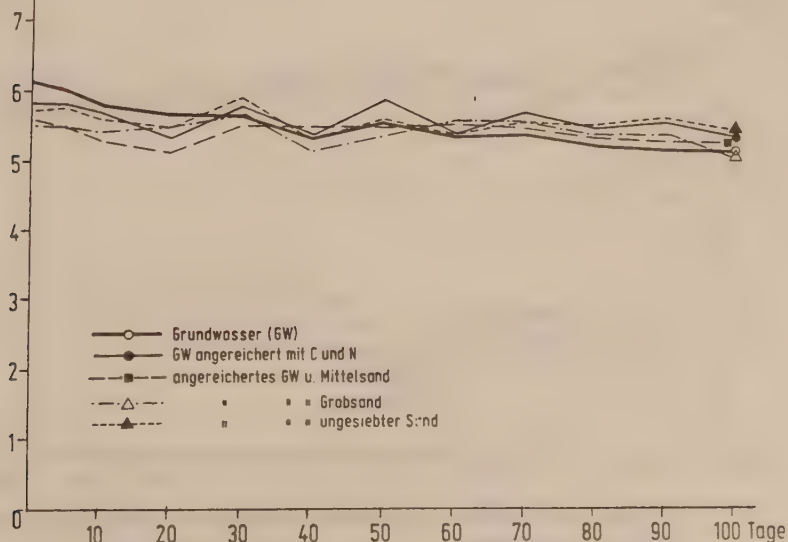


Abb. 10b Keimzahl von *Cl. perfringens* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

$\log_n \text{ ml}^{-1}$

- 79 -

Abb.11a Keimzahl von *Str. griseus* im Grundwasser mit Zusatz von Sand $\log_n \text{ ml}^{-1}$ Abb.11b Keimzahl von *Str. griseus* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen

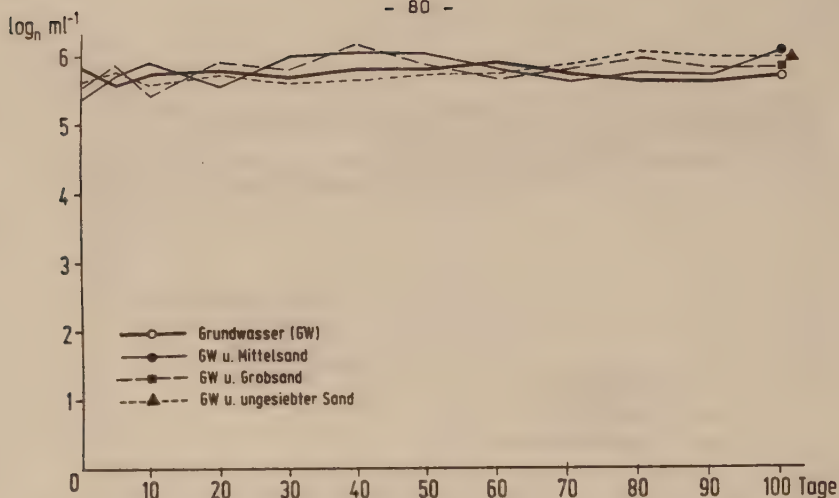


Abb. 12a Keimzahl von *N. alba* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

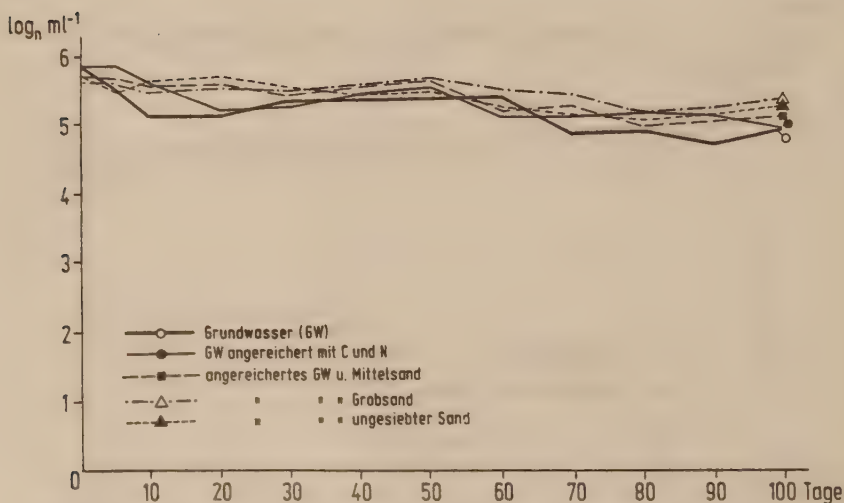


Abb. 12b Keimzahl von *N. alba* im Grundwasser mit Zusatz von Sand
und von Nährstoffen

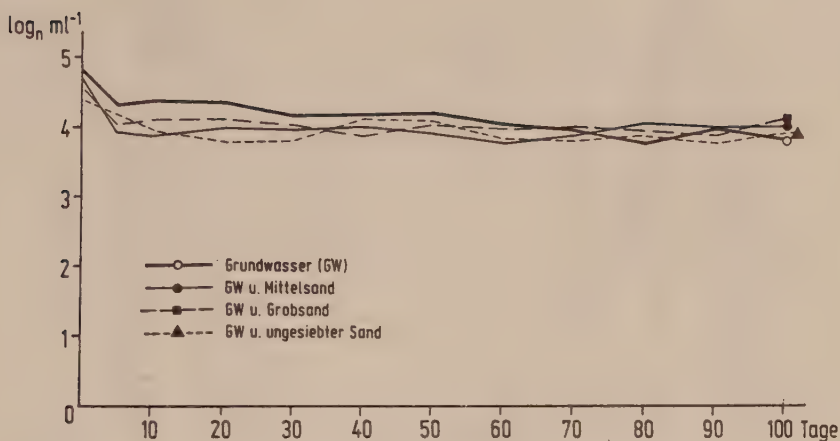


Abb. 13a Keimzahl von *A. niger* im Grundwasser mit Zusatz von Sand

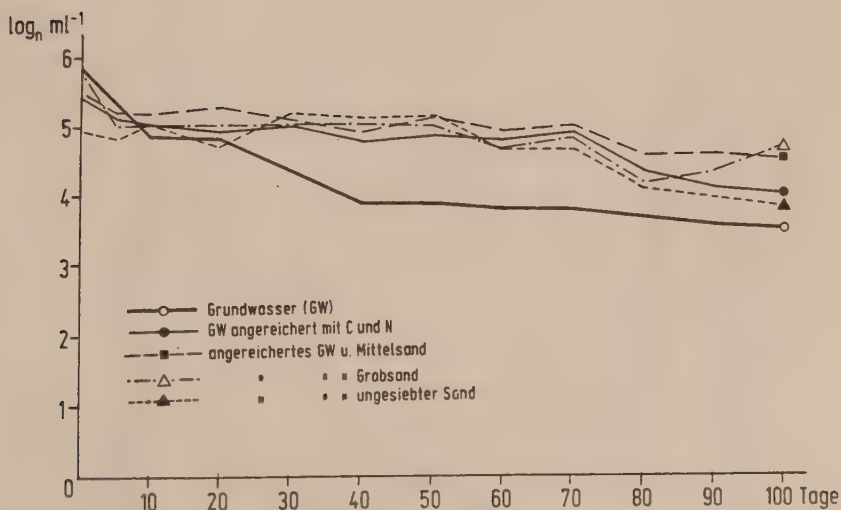
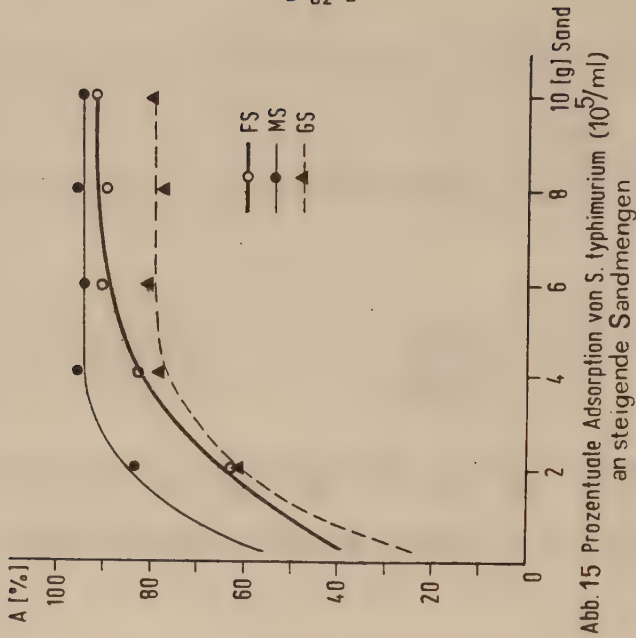
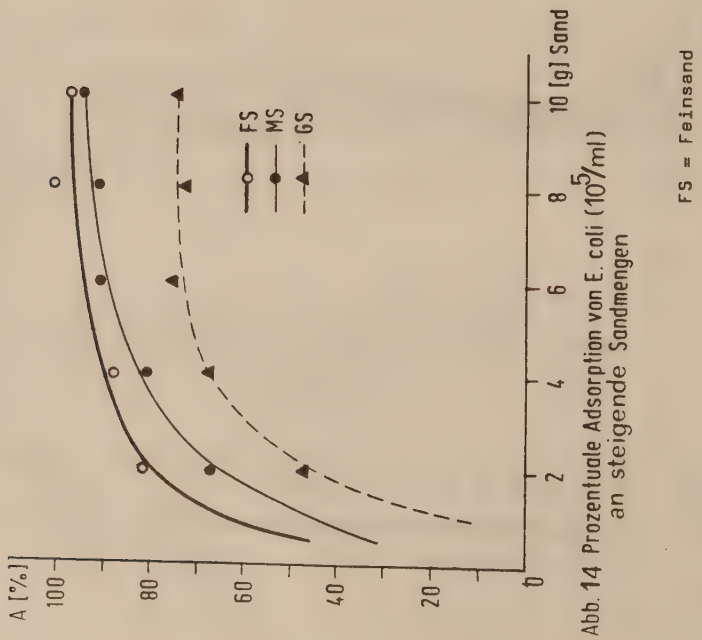
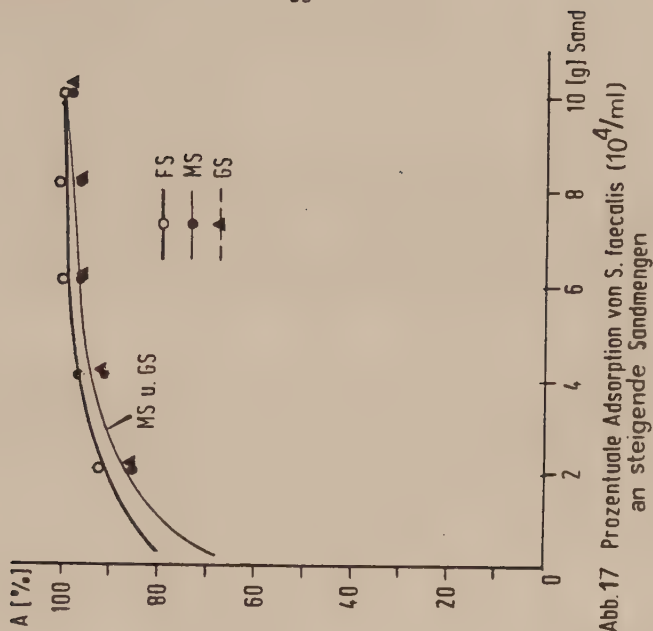
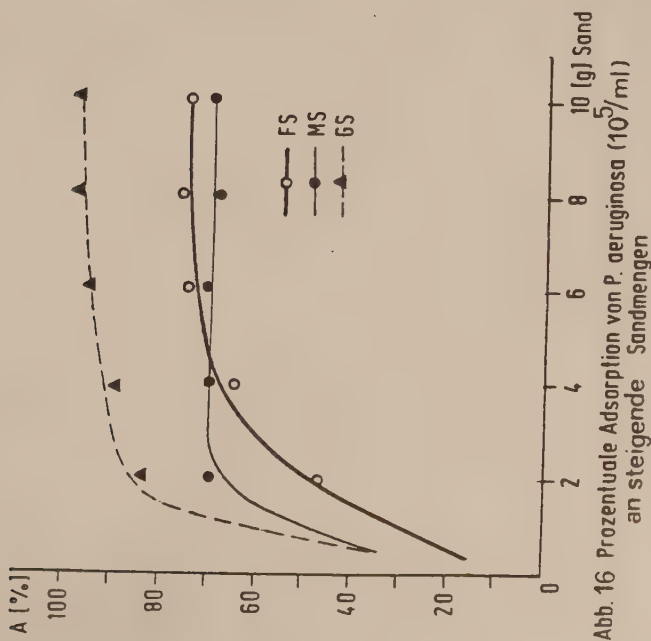


Abb. 13b Keimzahl von *A. niger* im Grundwasser mit Zusatz von Sand und von Nährstoffen





Zum Abschluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Dir. u. Prof. Dr. Filip, Institut für Wasser, Boden und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes Berlin, für die Überlassung des Themas und für seine Betreuung während der Durchführung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Hellmann, Leiter des Institut für Mikrobiologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin, für seinen Rat und seine Hilfe in viele wissenschaftlichen Fragestellungen und bei der abschließenden Formulierung des Manuskriptes.

Weiterhin danke ich Fr. Rita Schatz für die technische Hilfe und allen Mitarbeitern der Fachgebiet Bakteriologie der Abteilung Spezielle Umwelthygiene, Humanökologie und Gesundheitstechnik, für ihr Entgegenkommen und ihre Hilfsbereitschaft.

L e b e n s l a u f

22.10.1948	geboren in Kikubampagi/Uganda
1956 - 1961	Besuch der Grundschule in Nandere/Uganda
1962 - 1963	Besuch der Oberschule in Nandere/Uganda
1964 - 1967	Besuch des Gymnasiums in Namiryango College/Uganda
1968 - 1969	Abitur in Namiryango College/Uganda
1970 - 1974	Studium der Veterinärmedizin an der Universität von Nairobi/Kenya
April 1974	Ablegung der Universitätsprüfungen für das Degree der Bachelor of Veterinary Medicine
Mai 1974 - April 1975	Wiss. Mitarbeiter an das Animal Health Research Center Entebbe/Uganda
Mai 1975 - August 1975	Aufenthalt in der Bundesrepublik Deutschland und Erlernung der deutschen Sprache
September 1975 - Dezember 1979	Stipendiat des Berliner Senators für Gesundheit und Umweltschutz für eine Fortbildung in Bakteriologie und Lebensmittelhygiene im Institut für Veterinärmedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin
1979	Anfertigung einer Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines "Master of Science" (M.Sc.) der Veterinärmedizin
1980	Wiss. Mitarbeiter im o.g. Institut
1981 - 1983	Wiss. Mitarbeiter im Institut für Wasser, Boden und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes und Anfertigung der Promotionsarbeit

